



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Polifenoles y actividad antioxidante del extracto
etanólico de Gentianella dianthoides (Kunth) Fabris y
elaboración de una crema dermocosmética**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias
Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética

AUTOR

Miguel Angel VASQUEZ HUAMAN

ASESOR

Américo Jorge CASTRO LUNA

Lima, Perú

2018



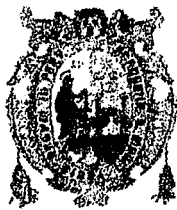
Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Vasquez M. Polifenoles y actividad antioxidante del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris y elaboración de una crema dermocosmética [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica / Unidad de Posgrado; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR

AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS CON MENCIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA COSMÉTICA

Siendo las **08:30 hrs. del 23 de agosto de 2018** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. César Máximo Fuertes Ruitón e integrado por los siguientes miembros: Dr. Américo Jorge Castro Luna (Asesor), Dr. Luis Miguel Visitación Félix Veliz, Mg. Bertran Santiago Trujillo y el Mg. Oscar Herrera Calderón; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"POLIFENÓLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE GENTIANELLA DIANTHOIDES (KUNTH) FABRIS Y ELABORACIÓN DE UNA CREMA DERMOCOSMÉTICA"**, presentada por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica **MIGUEL ANGEL VÁSQUEZ HUAMÁN**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Dieciséis (16) Muy bueno

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **MIGUEL ANGEL VÁSQUEZ HUAMÁN**, el Grado Académico de Magíster en **Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**.

Siendo las *10:45* hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las *10:45* hrs. del 23 de agosto de 2018.

Dr. César Máximo Fuertes Ruitón (P.P., D.E.)
Presidente

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)
Miembro - Asesor

Dr. Luis Miguel Visitación Félix Veliz (P.P., T.C.)
Miembro

Mg. Bertran Santiago Trujillo (P. Aux., T.P.)
Miembro

Mg. Oscar Herrera Calderón (P. Aux., T.C.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIA:

Este trabajo se lo dedico principalmente a JEHOVÁ DIOS, por darnos la vida, guiar nuestro camino, por el amor que nos tiene para los seres humanos y por sus justas normas. A mis padres JOSÉ VASQUEZ CERCADO y GUADALUPE HUAMÁN ZUÑIGA, por su apoyo, confianza y consejos, quienes con su dedicación y sacrificio hicieron posible la culminación de mis estudios de posgrado, por su amor incondicional y protección de padres que han tenido para conmigo.

Asimismo, lo dedico a mis hermanos JOHN VASQUEZ y JOSÉ VASQUEZ, por sus consejos y apoyo constante en todo este tiempo que hemos vivido y compartido en familia. Por su gran ejemplo profesional y personal.

Finalmente, lo dedico a mis queridos tíos: Marcial Vásquez y su esposa Francisca, quienes me apoyaron en el inicio de este proyecto y por su gran conocimiento en recursos naturales.

AGRADECIMIENTOS:

A mi asesor Dr. AMERICO CASTRO LUNA, por su asesoría en esta investigación y sobre todo por su paciencia y apoyo incondicional durante todo el proceso. Al Lic. Mario Morote y al Lic. Cesar Cabrera, grandes amigos, compañeros de trabajo, por sus consejos en el día a día laboral y orientación en la parte microbiológica.

Asimismo, agradezco al laboratorio de control de calidad del IPEN, lugar donde pude realizar una parte de esta investigación. A mí querida Facultad de Farmacia y Bioquímica, por estos años vividos en ella y el conocimiento impartido, para poder realizar esta tesis.

Finalmente agradezco a los Dres. Miembros del Jurado Examinador y Calificador: Dr. César Fuertes Ruitón, Dr. Luis Félix Veliz, Mg. Bertran Santiago Trujillo y Mg. Oscar Herrera Calderón por su invaluable aporte académico, revisión y valiosas sugerencias que permitieron la mejora de esta tesis.

A mis grandes amigos: Q.F. Fátima, por su enorme apoyo en toda la maestría y a todas las personas que me mostraron su apoyo gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
LISTA DE TABLAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	x
 CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	 1
1.1. Situación problemática.....	1
1.2. Formulación del problema.....	3
1.3. Justificación teórica.....	3
1.4. Justificación práctica.....	4
1.5. Objetivos.....	5
1.5.1. Objetivo general.....	5
1.5.2. Objetivos específicos.....	5
 CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	 6
2.1. Antecedentes de la Investigación.....	6
2.2. Bases Teóricas.....	9
2.2.1. Estudio botánico.....	10
2.2.2. Radicales Libres.....	13
2.2.3. Estrés oxidativo.....	14
2.2.4. Antioxidante.....	14
2.2.5. Compuesto fenólicos.....	15
2.2.6. Control de calidad.....	16
2.3. Marco conceptual.....	17
 CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	 19
3.1. Materiales, equipos y otros.....	19
3.1.1. Muestra vegetal.....	19
3.1.2. Materiales.....	20
3.1.3. Reactivos.....	20
3.1.4. Equipos.....	22
3.2. Colecta y tratamiento post-cosecha.....	23
3.3. Clasificación taxonómica.....	23
3.4. Procesamiento del material vegetal.....	24

3.5.	Obtención del extracto etanólico.....	24
3.6.	Composición química.....	25
3.7.	Determinación de polifenoles totales en el extracto.....	25
3.8.	Determinación de la actividad antioxidante en el extracto.....	26
3.9.	Formulación de la crema dermocosmética con el extracto.....	27
3.10.	Determinación de la actividad antioxidante en la crema dermocosmética.....	28
3.11.	Control de calidad de la crema dermocosmética con el extracto.....	29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		34
4.1.	Resultados.....	34
4.1.1.	Extracción y rendimiento.....	34
4.1.2.	Caracterización química.....	34
4.1.3.	Determinación de polifenoles totales en el extracto.....	35
4.1.4.	Determinación de la actividad antioxidante en el extracto.....	37
4.1.5.	Formulación de la crema dermocosmética con el extracto.....	39
4.1.6.	Determinación de la actividad antioxidante en la crema dermocosmética.....	41
4.1.7.	Control de Calidad de la crema dermocosmética con el extracto.....	42
4.2.	Discusión.....	46
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....		50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		51
ANEXOS.....		58

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica.....	24
Tabla 2. Protocolo de liofilización.....	25
Tabla 3. Preparación de tubos por la determinación de polifenoles totales.....	26
Tabla 4. Preparación de tubos por el método de DPPH.....	27
Tabla 5. Formulación de la crema.....	28
Tabla 6. Artículo 2.- Incorporar como Anexo I de la Resolución 797 los siguientes cuadros: (CAN, 2012).....	33
Tabla 7. Porcentaje de rendimiento del Extracto Et/OH de <i>Gentianella dianthoides</i>	34
Tabla 8. Marcha fitoquímica del extracto metabólico.....	35
Tabla 9. Absorbancias del estándar de ácido gálico a 765 nm.....	35
Tabla 10. Contenido de polifenoles totales (CPT) del extracto Et/OH de <i>Gentianella dianthoides</i>	37
Tabla 11. Porcentaje de inhibición de DPPH del estándar Trolox®.....	37
Tabla 12. Porcentaje de inhibición de DPPH del extracto Et/OH de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	38
Tabla 13. Porcentaje de inhibición de DPPH de la crema dermocosmética al 0,5%; 1,5% y 3,0%.....	41
Tabla 14. Porcentaje de inhibición de DPPH de la crema dermocosmética al 3,0%.....	41
Tabla 15. Resultados de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de las cremas dermocosméticas a base de extracto de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	44
Tabla 16. Resultados del análisis microbiológico de las cremas dermocosméticas a base de extracto de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	45
Tabla 17. Análisis de regresión.....	47

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Gentianella dianthoides</i> . Recolección. Mayo 2017.....	11
Figura 2. <i>Gentianella dianthoides</i> "Lirambo".....	19
Figura 3. <i>Gentianella dianthoides</i> . Recolección. Mayo 2017.....	23
Figura 4. Soluciones buffer pH 4; 7 y 10.....	30
Figura 5. Dilución de muestra de crema.....	31
Figura 6. Preparación de placas petri para cada medio por cada nivel de dilución.....	33
Figura 7. Curva de calibración del estándar Ácido Gálico..	36
Figura 8. Curva de calibración del estándar Trolox®.....	38
Figura 9. Curva de calibración del extracto etanólico de <i>Gentianella dianthoides</i>	39
Figura 10. Pesaje de los extractos de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	39
Figura 11. Incorporación del extracto de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	40
Figura 12. Formulación de 03 cremas dermocosméticas...	40
Figura 13. Curva de calibración de la crema al 3,0% con extracto <i>Gentianella dianthoides</i>	42
Figura 14. Determinación de pH de las cremas.....	43
Figura 15. Análisis microbiológico de las cremas dermocosméticas.....	45
Figura 16. Departamento de Cajamarca a 3000 m.s.n.m...	59
Figura 17. Recolección de la planta <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	59
Figura 18. Maceración x 14 días del extrácto etanólico de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	60
Figura 19. Proceso de filtración.....	60
Figura 20. Extracto seco de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	61
Figura 21. Tamizaje fitoquímico de <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris.....	61

Figura 22. Espectrofotómetro UV-Vis.....	62
Figura 23. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto.....	62
Figura 24. Elaboración de la crema dermocosmética....	63
Figura 25. Balanza analítica.....	63
Figura 26. Pesaje del extracto.....	63
Figura 27. Baño termostático.....	63
Figura 28. Disolución en propilenglicol del extracto.....	64
Figura 29. Producto terminado de crema dermocosmética.....	64
Figura 30. Determinación de la actividad antioxidante en la crema dermocosmética.....	64
Figura 31. Potenciómetro.....	65
Figura 32. Análisis fisicoquímico de la crema dermocosmética.....	65
Figura 33. Laboratorio de microbiología. Control de calidad.....	65
Figura 34. Cabina de flujo laminar.....	66
Figura 35. Incubadora temperatura: $22,5 \pm 2,5$ °C.....	66
Figura 36. Incubadora temperatura: $32,5 \pm 2,5$ °C.....	66

ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de identificación botánica.....	58
Anexo 2. Fotos del procedimiento de metodología.....	59
Anexo 3. Certificado de calibración de balanza.....	67
Anexo 4. Certificado de mantenimiento de balanza.....	70
Anexo 5. Certificado de calibración del baño termostático.....	71
Anexo 6. Certificado de calibración del potenciómetro.....	73
Anexo 7. Certificado de calibración de la incubadora..	75
Anexo 8. Certificado de calibración de la incubadora..	77

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar los polifenoles totales y la actividad antioxidante en el extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris y la elaboración de una crema dermocosmética. El estudio fue de tipo experimental, el extracto obtenido de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris fue liofilizado y la composición química fue determinado mediante tamizaje fitoquímico. El contenido de polifenoles totales fue determinado colorimétricamente usando el reactivo de Folin-Ciocalteu, se utilizó como estándar el ácido gálico a concentraciones de 10 a 250 µg/mL. Se comprobó la actividad antioxidante por el método reducción del 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) utilizándose como solución patrón Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico). Con el extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris se elaboraron cremas en concentraciones de 0,5; 1,5 y 3,0%, se realizó el control de calidad de las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, y su actividad antioxidante. En las condiciones experimentales el proceso de extracción posee un rendimiento de 11,73%, la marcha fitoquímica arrojó presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, antraquinonas y saponinas. La determinación de polifenoles totales mostró que la cantidad de polifenoles es de 10,0365 mg/g de extracto, la determinación de la actividad antioxidante calculó la concentración inhibitoria media (IC₅₀) del Trolox® (3,8 µg/mL); del extracto etanólico, que en este caso, fue de 27,65 µg/mL y 56,87 µg/mL para la crema. La crema dermocosmética cumplió con las especificaciones organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas establecidas. Se concluye que la planta *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris tiene composición polifenólica y actividad antioxidante, así como también la crema con extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

Palabras clave: Composición química; antioxidantes; liofilizado; *Gentianella dianthoides*.

SUMMARY

The aim of the present study was to determine the total polyphenols and the antioxidant activity in the ethanolic extract of *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris to the elaboration of a dermocosmetic cream. The study was experimental; the lyophilized extract of *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris was used. The chemical composition was determined by phytochemical screening. The content of total polyphenols was determined colorimetrically using the Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid was used as a standard at concentrations of 10 to 250 µg / mL. The antioxidant activity was determined by the method of reduction of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), using Trolox® standard solution (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchrome-2-carboxylic acid). With the extract of *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris creams were made in concentrations of 0.5; 1.5 and 3.0%, the quality control of the organoleptic, physicochemical and microbiological characteristics was performed, and its antioxidant activity. In the experimental conditions, it was demonstrated that the extraction process has a yield of 11.73%, the phytochemical march showed the presence of flavonoids, phenolic compounds, anthraquinones and saponins. The determination of total polyphenols evidenced that the amount of polyphenols is 10.0365 mg/g of extract; the determination of the antioxidant activity calculated the mean inhibitory concentration (IC50) of Trolox® (3.8 µg / mL); of the ethanolic extract, which in this case, was 27.65 µg / mL and 56.87 µg / mL for the cream. The dermocosmetic cream complies with the established organoleptic, physicochemical and microbiological specifications. This study concluded that the plant *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris has polyphenolic composition and antioxidant activity, as well as the cream with lyophilized extract of *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

Keywords: Chemical composition; antioxidants; lyophilized; *Gentianella dianthoides*.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática

Vista la necesidad de promover el desarrollo sostenible en diversas áreas, sea visto un incremento en la demanda de productos naturales para la elaboración de bienes finales. En ese sentido, las industrias de alimentos, farmacéuticas y cosméticas han aumentado también la oferta de productos a base de ingredientes naturales, siendo esta última una de las que más demanda estos componentes (PROMPERU., 2017). Debido a las propiedades que tienen los productos con extractos de plantas y productos naturales, además porque se considera menos tóxico y porque producen una menor proporción de efectos secundarios (Ortiz S.,2015). La megadiversidad del Perú se evidencia en la diversidad de especies, de recursos genéticos, y de ecosistemas, que es necesario destacar y poder identificar los de mayores potencialidades para prevenir o tratar enfermedades, beneficiando a la humanidad, en su aplicación en los laboratorios farmacéuticos, entre otras (Carbonel K., 2016). Para el Perú se estima 25 mil las especies existentes, aunque algunos científicos calculan que esta cifra hasta puede ser duplicada, siendo endémicas un porcentaje importante de estas especies. Por otro lado, aproximadamente 4000 especies tienen diversos usos, en la alimentación y salud, en la cosmética, en la tintura como aromatizantes y saborizantes, como biocidas, en la industria, agroforestería, ornamental, entre otros usos; debemos mencionar que mucho de este uso se encuentra arraigado en el saber popular y transmitida de generación en generación, y lamentablemente con escasa base científica (Lock O., 2009).

La familia Gentianaceae es reconocida en el Perú por presentar alrededor de 15 géneros y aproximadamente de 170 especies, mayormente hierbas y arbustos. Se reconoce 103 especies endémicas en siete géneros. Los

géneros con mayor número de especies endémicas son *Gentianella* y *Macrocarpaea*. Las especies endémicas ocupan principalmente las regiones de la Puna Húmeda y Seca, Páramo y Bosque Muy Húmedo Montano, entre los 1000 y 5100 m de altitud. Treinta y tres especies endémicas se encuentran representadas dentro de un área protegida (Castillo S., 2006).

Las especies de *Gentianella* (Familia Gentianaceae) también se encuentran a una altura mayor de 3000 msnm (Lock O., 2009). Esta especie se conoce de varias colecciones procedentes de Cajamarca, realizadas en la jalca, así como en la vegetación de puna en el sur del país. El área de presencia de esta especie alcanza los 10.000 km² (Castillo S., 2006). Como era de esperar por la quimiotaxonomía, se han aislado principalmente xantonas y en menor extensión secoiridoides y flavonoides. Algunos de los extractos y xantonas aisladas han sido sometidas a ensayos de actividad hipoglicemiante, antimicrobiana y antioxidante (Lock O., 2009).

Las especies de la familia *Gentianaceae* como la *Gentianella umbellata* y *Gentianella gramínea*, presentan fitoconstituyentes como flavonoides, peptinas, saponinas, triterpenos a los que se atribuye una serie de usos medicinales por los principios amargos que todas ellas poseen (Bermúdez L., 2015). La *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris ex. J. Pringle de nombre común Amargón anaranjado de familia *Gentianaceae*, de uso de toda la planta para las enfermedades del hígado, gripe y el resfrío (Seminario C. A., 2014).

Los antioxidantes naturales presentes en las plantas han cobrado gran interés en las últimas dos décadas puesto que el estrés oxidativo (un desbalance entre las sustancias oxidantes y prooxidantes) está implicado en un gran número de afecciones de la salud (Calderón J. A., 2011).

La presencia de ingredientes naturales en un cosmético es un reclamo publicitario que cuenta con gran aceptación entre los consumidores. Por este motivo, los proveedores de materias primas desarrollan continuamente

nuevos principios activos, tomando como punto de partida a los alimentos en muchas ocasiones (Rodas E., 2010).

1.2 Formulación del problema

¿Tendrá el extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris polifenoles y actividad antioxidante en una crema dermocosmética?

1.3 Justificación teórica

Numerosos estudios de plantas medicinales se han realizado desde hace décadas, a causa del uso potencial como fuente de sustancias con propiedades biológicas. Uno de los compuestos principales de las plantas son los antioxidantes, sustancias existentes en determinados alimentos que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y otras enfermedades. Asimismo, el estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas, tales como: arterioesclerosis, artritis, demencia, cáncer, entre otras. Es por ello que el uso de antioxidantes es estudiado de forma intensiva (Echevarría A., 2016).

La utilización de productos y materias primas de origen natural cada vez es más frecuente en la industria cosmética debido a su gran aceptación entre los consumidores, sin embargo no existen suficientes estudios científicos sobre la aplicación de las propiedades de éstos en productos cosméticos (Rodas E., 2010).

Unos de los productos más comunes en cosmética son las cremas. Las mismas son emulsiones, formadas por dos fases distintas y no compatibles, una acuosa y una oleosa. Para ésta última fase es necesaria la adición de antioxidantes para evitar procesos de degradación que generaría un cambio en la apariencia del producto, lo cual afectaría la calidad del mismo (Rodas E., 2010).

Las industrias farmacéuticas y cosméticas han desplegado grandes esfuerzos en la investigación científica de compuestos vegetales con actividad antioxidante. Los compuestos antioxidantes administrados en forma tópica son efectivos en el tratamiento del rejuvenecimiento de la piel porque neutralizan los efectos dañinos de los radicales libre antes de que éstos puedan adherirse a las membranas celulares y destruir las células. Los radicales libres contribuyen con el endurecimiento de las células de colágeno y elastina (Robalino E., 2015).

La poca oferta de cremas faciales con bases naturales ha negado la existencia de nichos nuevos de mercado, por consiguiente, la existencia de una nueva oferta de cremas faciales con bases naturales creará nichos de mercado y atraerá a las personas que buscan opciones de cremas naturales por dicha razón es importante incentivar la producción de cosméticos naturales de tal manera que se pueda satisfacer al consumidor y que se sientan atraídos por la calidad y riqueza de sus principios activos en las formulaciones. Además, los cosméticos naturales son una opción de cuidado personal, respetuosa con el entorno por sus procesos limpios de elaboración (Coboz D., 2015).

1.4 Justificación práctica

A nivel mundial, la tendencia actual en cosmética es la de ofrecer cosméticos naturales y orgánicos, que sean amigables con el medio ambiente. La demanda por estos productos de belleza con materias primas de origen natural está en alza, debido a una mayor concientización ecológica por parte de los consumidores (Vivaness, 2013).

La biodiversidad peruana tiene un gran potencial para ofrecer al mercado; sin embargo, hasta el momento son pocos los estudios científicos realizados sobre recursos vegetales peruanos que demuestren la seguridad de su uso o su eficacia en retardar el envejecimiento de la piel (Junes R., 2017).

Por todo lo mencionado anteriormente, el presente estudio busca determinar la presencia de polifenoles y actividad antioxidante del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, con el fin de darle un uso cosmético a partir de la elaboración de una crema dermocosmética y de esta forma, aportar y darle un valor agregado a esta especie.

1.5 Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Determinar la presencia de polifenoles totales y actividad antioxidante en el extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris en una crema dermocosmética.

1.5.2. Objetivo específicos

- Determinar los polifenoles totales del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris usando el método de Folin-Ciocalteu.
- Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris usando el método de DPPH.
- Determinar la actividad antioxidante en una crema dermocosmética preparada con el extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

González García, K. y colaboradores en el 2010. Efecto antioxidante y contenido polifenólico de *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae). La muestra fue secada hasta humedad inferior al 12% y se realizaron tres extracciones con solventes de polaridad creciente previamente al tamizaje fitoquímico y a las determinaciones analíticas. En el tamizaje fitoquímico se corroboró la existencia de altas concentraciones de flavonoides, triterpenos, polifenoles, antocianinas, azúcares reductores y alcaloides en los diferentes extractos obtenidos. El extracto total y la fracción metanólica mostraron elevada actividad antioxidante en correspondencia con la concentración de polifenoles, mientras que la fracción de éter de petróleo mostró actividad moderada y la fracción clorofórmica y el precipitado remanente no muestran actividad antioxidante significativa. Estos resultados predicen las potencialidades de la especie para su uso con fines biológicos (González K., 2010).

Cruzado, M. y colaboradores en el 2013. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). El contenido de fenoles totales del extracto de alcachofa de la especie *Cynara scolymus* L. alcanzó ser de 117,3 mg de ácido gálico/g de extracto. Este valor resultó ser mayor que en otras especies de alcachofas reportadas (31 – 58 mg de ácido gálico/g de extracto). Se encontró las mayores concentraciones de fenoles en muestras que no fueron microfiltradas, concluyendo que este proceso reduce la concentración de fenoles en los extractos de alcachofa. Se obtuvo un valor de CI_{50} a una concentración de 200mg/mL, lo cual es comparable a una actividad antioxidante de 47 mg de ácido gálico (Cruzado M., 2013).

Mora Villagomez, V. en el 2014. Elaboración de Crema Cosmética Anti-edad a Base de Cúrcuma Longa y sus Características Físico-Químico y análisis Sensorial. Para determinar la actividad antioxidante de la Cúrcuma Longa, el extracto se obtuvo a una misma concentración con la solución del radical libre DPPH. El análisis obtuvo una reacción continua que se estabiliza aproximadamente a los 40 min y a consumió en su gran mayoría el reactivo DPPH dando un porcentaje de inhibición del 90%. La crema cosmética realizada utilizando cúrcuma longa esta apta para ser utilizada, como lo indican los resultados de los análisis sensoriales realizados así como el físico-químico y microbiológicos que señalan rangos permisibles para el uso externo de la piel humana (Mora V., 2014).

Inocente Camones, M. y colaboradores en el 2014. Actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de Camu Camu (*Myrciaria dubia* Kunth.). Se determinó la actividad antioxidante por el método de DPPH y ABTS, valores de 876,729 $\mu\text{mol Trolox/g camu camu}$ para el gel y 1389,650 $\mu\text{mol Trolox/g camu camu}$ para la loción (método DPPH) y valores de 15,330 $\text{mmol Trolox/g camu camu}$ para el gel y 23.384 $\text{mmol Trolox/g camu camu}$ para la loción (método ABTS). El FPS de las formulaciones se determinó mediante un método *in vitro* desarrollado por Mansur. Se obtuvo valores de $10,897 \pm 0,298$ para el gel y $13,401 \pm 0,319$ para la loción (Inocente M., 2014).

Inocente C. M. y colaboradores en el 2014. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK). Se cuantifico el contenido de compuestos fenólicos de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de los frutos de *Passiflora mollissima* HBK., con valores de $111,657 \pm 2,823 \text{ mg de equivalentes de ácido gálico/100 mL muestra}$ (método de Folin Ciocalteu), lo cual permitió establecer una relación con la actividad antioxidante con valores de $423,187 \pm 2,345 \mu\text{mol Trolox/mL muestra}$ (DPPH) y valores de $0,774 \pm 0,0088 \text{ mmol Trolox/mL}$

muestra (método ABTS). Se obtuvieron valores de $11,754 \pm 0,241$ FPS (método *in vitro* de Mansur) (Inocente C. M., 2014).

Carbonel Villanueva, K. y colaboradores en el 2016. Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante *in vitro* del extracto de *Gentianella nítida*. La *Gentianella nítida* presentó una densidad aparente 1,032 g/mL. Con el método de DPPH y ABTS tuvo $IC_{50} = 145 \mu\text{g/mL}$ y 1,49 mg/mL respectivamente. El contenido de fenoles totales fue 65,8 $\mu\text{g EAG/mg ss}$ y de flavonoides 11,7 $\mu\text{g EQ/mg ss}$. El extracto acuoso de la *Gentianella nítida* exhibió capacidad antioxidante que guardó correlación con el contenido de compuestos fenólicos (Carbonel K., 2016).

Giurfa Tutaya, G. y Oblitas Barboza, J. en el 2017. Polifenoles, actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa, efecto fotoprotector de *Lessonia nigrescens* Bory y desarrollo de una forma dermocosmética. El extracto hidroalcohólico del alga parda *Lessonia nigrescens* Bory contiene polifenoles; siendo el rizoide la parte del alga que contiene la mayor concentración de los mismos igual a 0,629 μg de EAG/mg de extracto. Los métodos antioxidantes *in vitro* DPPH y ABTS demostraron que el rizoide es la parte del alga que presenta mayor actividad antioxidante, con un $IC_{50} = 11 \times 10^3 \text{ mg/mL}$ y $IC_{50} = 90,9 \text{ mg/mL}$ para cada método. Las cremas preparadas en base a extracto hidroalcohólico de rizoide demostraron ser estables luego de la adición del extracto a sus diferentes concentraciones (Giurfa G., 2017).

2.2. Bases teóricas

En el Perú existen diferentes tipos de plantas que son conocidas y empleadas desde los antiguos peruanos. Dentro de estas plantas destaca la familia *Gentianaceae*, la cual está representada con alrededor de 15 géneros y aproximadamente de 170 especies repartidas mayormente en hierbas y arbustos, dentro de las cuales existen algunas especies endémicas del Perú. Las plantas medicinales, especialmente sus hojas poseen un alto contenido de antioxidantes, especialmente, polifenoles (Gallardo A., 2015).

Las especies de la familia *Gentianaceae* como la *Gentianella umbellata* y *Gentianella gramínea*, presentan fitoconstituyentes como flavonoides, peptinas, saponinas, triterpenos a los que se les atribuye efecto hipoglucemiante. *Gentianella chamuchui*, es una planta endémica del Perú, conocida como “chamochui”, “chinchimalí”, “genciana”, “lirambo”, “hapallashakoc”, “corpus hui macho”, “shalcadino”, que se ha reportado entre los 3000 y 4500 m.s.n.m. desde el sur de Cajamarca hasta el norte de Áncash. Entre sus usos etnomedicinales destacan su acción antidiabética, antipalúdica, colagoga, contra enfermedades neriosas, digestivas, emanagoga, febrífuga, hepatoprotectora, purificadora de la sangre y tónica (Bermúdez L., 2015).

La fitocosmética utiliza principios activos de origen vegetal en productos cosméticos, pero es bien sabido que estos productos no solo se emplean para “adórnanos”, sino también para solucionar alteraciones específicas de la piel (Ortiz S., 2015).

Las industrias farmacéuticas y cosméticas han desplegado grandes esfuerzos en la investigación científica de compuestos vegetales con actividad antioxidante. Los compuestos antioxidantes administrados en forma tópica son efectivos en el tratamiento del rejuvenecimiento de la piel porque neutralizan los efectos dañinos de los radicales libre antes de que éstos puedan adherirse a las membranas celulares y destruir las células.

Los radicales libres contribuyen con el endurecimiento de las células de colágeno y elastina (Robalino E., 2015).

La presencia de ingredientes naturales en un cosmético es un interés publicitario que cuenta con gran aceptación entre los consumidores. Los productos realizados con base a extractos naturales han alcanzado un gran desarrollo en la modernidad del ser humano, además de tener un gran interés en la industria debido a que sustituir sustancias químicas por extractos naturales hace que el producto tenga las mismas funciones y además que aminore su grado de toxicidad. Las cremas y cosméticos usados en la piel de mujeres y hombres dependen de una excelente producción y formulación, debido a esto los cosméticos y cremas con base en productos naturales tienen mayor importancia al prevenir irritaciones en pieles sensibles y delicadas (Ortiz S., 2015).

2.2.1. Estudio botánico

(1) Características botánicas

La *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris ex. J. Pringle de nombre común Amargón anaranjado de familia *Gentianaceae*, de uso de toda la planta para las enfermedades del hígado, gripe y el resfrío (Seminario C. A., 2014). Herbáceo anual, 40 cm de alto, tallo nudoso cilíndrico, glabrolustroso (sin pelos), hojas opuestas perfoliadas las basales, las superiores simplemente opuestas ligeramente decurrentes. Inflorescencias terminales en racimos compuestos flores tubulosas con pétalos de color verde amarillento en el tubo y rosado en el ápice. Se utiliza para el dolor de cabeza, males reumáticos, resfrío (Ruiz C., 2012). Tal como se aprecia en la Figura 1.



Figura 1. *Gentianella dianthoides*. Recolección. Mayo 2017.

(2) Clasificación taxonómica

Según el sistema de clasificación botánica de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas:

- **Reino** : Plantae
- **División** : Magnoliophyta
- **Clase** : Magnoliopsida
- **Subclase** : Asteridae
- **Orden** : Gentianales
- **Familia** : Gentianaceae
- **Género** : Gentianella
- **Especie** : *Gentianella dianthoides* (Kunth)
Fabris ex J.S. Pringle

(3) Distribución geográfica y hábitat

La familia Gentianaceae es reconocida en el Perú por presentar alrededor de 15 géneros y aproximadamente de 170 especies, mayormente hierbas y arbustos. Se reconoce 103

especies endémicas en siete géneros. Los géneros con mayor número de especies endémicas son *Gentianella* y *Macrocarpaea*. Las especies endémicas ocupan principalmente las regiones de la Puna Húmeda y Seca, Páramo y Bosque Muy Húmedo Montano, entre los 1000 y 5100 m de altitud. Treinta y tres especies endémicas se encuentran representadas dentro de un área protegida (Castillo S., 2006). Las especies de *Gentianella* (Familia Gentianaceae) también se encuentran a una altura mayor de 3000 msnm (Lock O., 2009). Esta especie se conoce de varias colecciones procedentes de Cajamarca, realizadas en la jalca, así como en la vegetación de puna en el sur del país. El área de presencia de esta especie alcanza los 10.000 km² (Castillo S., 2006). Como era de esperar por la quimiotaxonomía, se han aislado principalmente xantonas y en menor extensión secoiridoides y flavonoides. Algunos de los extractos y xantonas aisladas han sido sometidas a ensayos de actividad hipoglicemiante, antimicrobiana y antioxidante (Lock O., 2009).

(4) Uso tradicional

En este contexto, los recursos de origen vegetal, como las plantas medicinales, tienen una gran importancia ya que protegen y potencian el organismo, confiriendo a la medicina andina un carácter fundamentalmente fitoterapéutico. El conocimiento tradicional de las propiedades curativas de las plantas ha sido transmitido hasta nuestros días (Ruiz C., 2012).

Uno de los compuestos principales de las plantas son los antioxidantes, sustancias existentes en determinados alimentos que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y otras enfermedades. Asimismo, el estrés

oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas, tales como: arterioesclerosis, artritis, demencia, cáncer, entre otras. Es por ello que el uso de antioxidantes es estudiado de forma intensiva (Echevarría A., 2016).

Uso: Hígado, Riñones, Sangre, Purgante, Diabetes, Limpia, Riego de la sangre, Problemas de sangre (general), Infección de Hígado / Planta entera, fresco / Oral / Hervir 10g de Genciana en 1 litro de agua por 2 minutos. Tomar una vez al día antes de comer en la noche, cada día siguiente por 1 semana. Sobredosis puede causar aborto en mujeres embarazadas (Bussmann R., 2015).

2.2.2 Radicales libres

Un radical libre se define como un átomo o molécula que tiene uno o más electrones no apareados girando en sus orbitas externas. Es por esto que los radicales libres oxidan a las moléculas vecinas para así adquirir un equilibrio químico. Pero esas moléculas vecinas, al momento de ser oxidadas por los radicales libres, se convierten en especies radicalarias inestables (señalizado por el punto situado a la derecha del símbolo) que van en busca de electrones de otras moléculas vecinas y es así como se genera una reacción en cadena capaz de destruir estructuras biológicamente importantes (Camacho D., 2013).

Los radicales libres no son completamente dañinos, ya que nuestro propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus; son producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones. El problema para nuestras células se produce cuando se da un exceso sostenido de radicales libres en nuestro sistema, a través de los años, situación

en la cual nuestro sistema antioxidante requiere de los antioxidantes de la dieta (Oliveira, 2014).

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son: Radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), Anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), Oxígeno singulete (O_2), Oxígeno nítrico (NO), Peróxido (ROO), Semiquinona (Q) y el Ozono (O_3). La ruta clásica de los radicales libres conduce a una iniciación de rápida progresión, las reacciones en cadena destructiva (Gálvez, 2013).

2.2.3 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS o ERO) y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. En términos químicos, el estrés oxidativo es un gran aumento en la reducción del potencial celular o una gran disminución en la capacidad reductora de los pares redox celulares como el glutatión. El estrés oxidativo severo puede causar la muerte celular y aún una oxidación moderada puede desencadenar la apoptosis, mientras que si es muy intensa puede provocar la necrosis. Un aspecto particularmente destructivo del estrés oxidativo es la producción de especies reactivas del oxígeno, que incluyen los radicales libres y los peróxidos (Camacho D., 2013)

2.2.4. Antioxidante

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que provocan las reacciones en cadena que dañan

las células. Los antioxidantes bloquean estas reacciones mediante la eliminación de los intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación, oxidándose ellos mismos (Rengifo P., 2014).

Según su modo de acción es posible diferenciar a los antioxidantes denominados primarios, debido a que actúan interrumpiendo la reacción en cadena que producen los radicales libres y generando como consecuencia de ello un radical libre menos activo; también es posible observar la existencia de antioxidantes secundarios, que tienen acción preventiva y actúan atrapando los iones metálicos que producen la descomposición del peróxido de hidrógeno, generando como consecuencia de ello el radical hidroxilo. (Pastene, Gómez, Speisky y Núñez-Vergara, 2009)

2.2.5. Compuestos fenólicos

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol (nombre popular del hidroxibenceno), unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Estos se encuentran generalmente en las plantas en forma de ésteres o glicósidos (Álvarez E., 2003).

Los compuestos polifenólicos se encuentran en pequeñas cantidades en frutas, vegetales y granos con actividad biológica entre la que destaca su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antiagregante plaquetarios, antimicrobiana y antitumoral. Los principales son ácidos fenólicos, flavonoides, flavonas, isoflavonas, flavonoles, derivados de la cumarina, ácido cinámico y antocianidinas (Olguín, Meléndez, Zúñiga y Pasquetti A., 2004).

Se encuentran en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en

algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello, la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es unida a glicósidos, haciéndolos más solubles en agua y solventes orgánicos (Junes R., 2017).

2.2.6. Control de calidad

Hoy en día se considera que el sistema de control de calidad, por etapas o sectorial, no es suficiente y lo que se intenta aplicar es el concepto de "garantía de calidad". Este concepto abarca, además de los controles de calidad básicos, ya mencionados, el concepto de operar de acuerdo a unas normas que disminuyan el riesgo de errores en la elaboración de medicamentos, y garantizar la obtención de un producto final con la calidad prevista durante el tiempo de validez establecido en el material de acondicionamiento. (Guevara E., 2012).

Los parámetros a ser evaluados en los productos son:

➤ **Evaluación organoléptica**

Las características organolépticas determinan los parámetros de aceptación del producto del consumidor. De un modo general, se evalúan:

- Aspecto
- Color
- Olor
- Sabor
- Sensación al tacto (Guevara E., 2012).

➤ **Evaluación físico-química**

Es importante para estudiar alteraciones en la estructura de la formulación que no son comúnmente perceptibles a

simple vista. Los análisis físico-químicos sugeridos son: Valor de PH, extensibilidad, untuosidad, densidad, conductividad eléctrica, humedad, etc. (Guevara E., 2012).

➤ **Evaluación microbiológica**

Cuando un producto cosmético sufre contaminación microbiológica, empieza su deterioro manifestado principalmente por la producción de olores, cambios de color y cambios en su consistencia. Además la presencia de los microorganismos puede ocasionar ruptura de la emulsión en el caso de las cremas y alteración en las propiedades reológicas como pérdida de su textura (Vega M., 2015). La contaminación microbiana de un producto cosmético puede tener diferentes orígenes: materias primas, medio ambiente, equipo de fabricación, equipo de envasado, mala manipulación por parte del personal de fabricación, e inadecuada utilización por parte del consumidor (Vega M., 2015).

2.3. Marco conceptual

En el presente trabajo se han operacionalizado los siguientes conceptos:

- **Antioxidante:** un antioxidante es toda sustancia capaz de inhibir la oxidación y que se puede agregar con esta finalidad a los productos farmacéuticos o cosméticos expuestos a deterioro por procesos oxidativos, como rancidez en los aceites y grasas (Rodas E., 2010).
- **Compuestos polifenólicos:** son compuestos químicos sintetizados por las plantas como producto de su metabolismo secundario. Son un conjunto heterogéneo de moléculas que se caracterizan por la presencia de uno o varios anillos fenólicos sustituidos por funciones hidroxilicas. Debido a su estructura química, presentan propiedades

captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante (Giurfa G., 2017).

- **Fitocosméticos:** la palabra fitocosmético deriva de la palabra griega Kosmein que significa decorar y de fitos que significa planta. La Fitocosmética utiliza principios activos de origen vegetal en productos cosméticos (Ortiz S., 2015).
- **Cosméticos:** es una sustancia o preparado destinado a ser puesto en contacto con las diversas partes superficiales del cuerpo (epidermis, sistema capilar y piloso, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas de la cavidad bucal, con el fin exclusivo o propósito principal de limpiarnos, perfumarlos, modificar su aspecto, corregir los olores corporales y protegerlos o mantenerlos en buen estado (Rodas E., 2010).
- **Crema:** Las cremas son preparaciones homogéneas y semisólidas consistentes en sistemas de emulsión opacos. Su consistencia y sus propiedades dependen del tipo de emulsión, bien sea agua/aceite (hidrófobas) o aceite/agua (hidrófilas) y la naturaleza de los sólidos de la fase interna. Las cremas están destinadas para su aplicación en la piel o ciertas mucosas (Guevara E., 2012). Desde el punto de vista técnico, las cremas son emulsiones, formado por dos líquidos no miscibles, en el que uno de ellos está disperso en el otro en forma pequeñas gotas (Bautista M., 2011).
- **Crema dermocosmética:** Son preparados que al aplicar en la piel con fines de embellecimiento ejercen una acción determinante en cuanto a provocar un cambio en esta, es decir es un cosmético que posee ingredientes activos que ayudan a la piel a mantenerla y protegerla. Esto hace posible incorporar en estos productos para el cuidado de la piel un número ilimitado de sustancias activas a partir de fuentes naturales (extractos de plantas o algas, aceites, oleorresinas) (Yaringaño, J., 2015).

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1 Materiales, equipos y otros

Este trabajo de investigación se desarrolló en un centro analítico con la infraestructura adecuada y equipos adecuados:

- Laboratorios del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM.
- Laboratorio de Control de Calidad del Instituto Peruano de Energía Nuclear, IPEN.

3.1.1. Muestra vegetal

La Planta *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris conocida comúnmente como “Lirambo” procedente de Cajamarca.



Figura 2. *Gentianella dianthoides* “Lirambo”

3.1.2. Materiales

- Fiolas de 25 mL
- Pipetas graduadas de 5 mL y 1 mL
- Tubos de ensayo
- Placas Petri
- Gradillas
- Probetas graduadas de 25 mL, 50 mL y 100 mL
- Vaso precipitado de 250 mL y 500 mL
- Cubetas
- Baguetas
- Celdas de plástico y vidrio
- Vórtex
- Papel filtro
- Papel Whatman
- Embudo
- Papel aluminio
- Espátula
- Soporte Universal
- Pinzas
- Frascos de vidrio ámbar con tapa rosca
- Mortero
- Capsula de porcelana
- Beaker de 250 mL
- Envases de vidrio y plástico

3.1.3. Reactivos

- Reactivo Folin-Ciocalteu
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico
- Carbonato de sodio
- Ácido gálico
- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

- Metanol
- Alcohol etílico de 96°
- Alcohol de 70°
- Tricloruro férrico
- Gelatina
- Dicromato de potasio
- Hipoclorito de sodio
- Magnesio metálico
- Ácido clorhídrico q.p.
- Cloroformo
- Anhídrido acético
- Ácido sulfúrico
- Benceno
- Hidróxido de sodio al 5%
- R. Dragendorff
- R. Bertrand
- Solución Buffer pH 4,0, Buffer pH 7,0 y Buffer pH 10,0
- Alcohol cetearílico, Lauril Sulfato de Sodio y Cetearil Sulfato de Sodio.
- Miristato de Isopropilo
- Vaselina Líquida
- Alcohol cetílico
- EDTA
- Fenoxietanol, Metilparabeno, Etilparabeno y Propilparabeno
- Propilenglicol
- Agua destilada
- Agar digerido de Caseína y Soya
- Agar Sabouraud
- Agar Mac. Conkey
- Escherichia Coli ATCC 25922
- Pseudomona Aeruginosa ATCC 27853
- Staphylococcus Aureus ATCC 6538

3.1.4. Equipos

Los equipos, instrumentos y otros dispositivos deben estar diseñados, contruidos, adaptados, ubicados, calibrados, verificados, y mantenidos según sea requisito para las operaciones que se lleven a cabo el laboratorio.

Se utilizaron los siguientes equipos:

- (1) Espectrofotómetro UV-Vis marca: Thermo Scientific, modelo: GENESYS 10S UV-Vis. Figura 22.
- (2) Balanza analítica marca: AND, modelo: GH-200, código: BA21AC, serie: 15101451. Figura 25. Anexo 3 – 4.
- (3) Baño de termostático marca: MEMMERT, modelo: W270, código: ES42AC, serie: 781041. Figura 27. Anexo 5.
- (4) Potenciómetro marca: FISHER SCIENTIFIC modelo: AR20 Código: PH02AC, serie: AR81205060. Figura 31. Anexo 6.
- (5) Cabina de flujo laminar (CFL) marca: LABCONCO, código: CQ15AC, serie: 050739582. Figura 34.
- (6) Incubadora marca: THELCO, modelo: 5DG, código: ES35AC, serie: 9604-0-10. Figura 35. Anexo 7.
- (7) Incubadora marca: MMM, modelo: INCUCCELL 111, código: ES39AC, serie: B052298. Figura 36. Anexo 8.
- (8) Liofilizador marca: Labconco, modelo: 7400040.
- (9) Micropipetas, bomba de vacío, centrifuga, etc.

3.2 Colecta y tratamiento post-cosecha

La planta *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris conocida comúnmente como “Lirambo”, fue recolectada en el mes de mayo del 2017, en la provincia de Hualgayoc, distrito de Bambamarca y departamento de Cajamarca a una altura mayor de 3000 m.s.n.m (Lock O., 2009). El material recién recolectado (1 Kg peso húmedo) y luego secado a temperatura ambiente en un tiempo aproximado de 10 días. Figura 3.



Figura 3. *Gentianella dianthoides*. Recolección. Mayo 2017.

3.3 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica se realizó a través de profesionales inscritos que realizan certificación de identificación taxonómica de especímenes y productos de flora (Anexo 1), se usó el Sistema de Clasificación Botánica de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas (Tabla 1):

Tabla 1. Clasificación taxonómica

Reino	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Gentianales
Familia:	Gentianaceae
Género:	Gentianella
Especie:	<i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris ex J.S. Pringle

3.4 Procesamiento del material vegetal

La planta de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris fueron sometidas a un proceso de secado en una estufa a temperatura constante de 40 °C por 22 días. Posteriormente al proceso de secado, se disminuyó el tamaño de partícula pasando el material seco por un molino de cuchillos.

3.5 Obtención del extracto etanólico

Un total de 115 g del material vegetal seco y molido fueron sometidos a maceración por un tiempo de 14 días, utilizando como solvente de extracción alcohol etílico al 96° en cantidad de 1000 mL, con agitación constante. Luego se procedió a la filtración mediante papel de filtro Whatman N° 42, en un matraz kitasato de 500 mL Marca: Pyrex con un embudo buchner acoplado a una bomba de vacío (Figura 19). Luego de realizado el proceso de filtración se procedió a concentrar a sequedad la muestra a una Estufa de secado a 40°C. Este concentrado constituyo el extracto total, el cual fue sometido a un proceso de liofilización por un tiempo de 12 horas en un Liofilizador marca: Labconco, modelo: 7400040, obteniéndose un volumen final de 2,07 gramos (Tabla 2).

Tabla 2. Protocolo de liofilización

Segmento	Ramp (°C/min)	Hold	Time (Horas)
1	0.2	-55°	2
2	0.6	-25°	5
3	0.5	0°	3
4	0.6	10°	2
5	1	24°	-

En la tabla se pueden observar los 5 segmentos en los que consistió el proceso de liofilización. Previo a la temperatura a mantener (Hold) durante un tiempo determinado (Time) la temperatura desciende a una tasa indicada en la columna Ramp.

3.6 Composición química

La composición química se realizó mediante el tamizaje fitoquímico. Para realizar el tamizaje fitoquímico se utilizó el extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, se realizó mediante prueba fisicoquímicas (reacciones de formación de color o precipitado). Se catalogó cualitativamente los metabolitos en presencia y ausencia. Se evaluó la presencia de los siguientes metabolitos: Flavonoides (Shinoda), Compuestos Fenólicos (Tricloruro Férrico), Taninos (Gelatina, Dicromato de potasio, Hipoclorito de sodio), Alcaloides (R. Dragendorff, R. Bertrand), Saponinas (Prueba de Espuma), Esteroides (Liebermann-Buchard) y Antraquinonas (Borntrager (Krauss)).

3.7 Determinación de polifenoles totales en el extracto

Para realizar el contenido de polifenoles totales se determinó colorimétricamente usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (Giurfa G., 2017). Un volumen de 100 µL del extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, se mezcló con 500 µL del reactivo ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico (conocido como Folin-Ciocalteu 0,2 N) y 400 µL de Na₂CO₃ al

7,5% w/v. La mezcla se homogenizó y se dejó en reposo durante una hora en oscuridad. Finalizado el tiempo, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Marca: Thermo Scientific Modelo: GENESYS 10S UV-Vis. Se preparó la curva de calibración del estándar ácido gálico a concentraciones de 10 a 250 µg/mL. El contenido de polifenoles totales (CPT) lo expresamos como equivalentes de ácido gálico. (Tabla 3).

Tabla 3. Preparación de tubos por la determinación de polifenoles totales

	Tubo Blanco	Tubo Control DPPH	Tubo Muestra Problema
Agua destilada	100 µL	-	-
Estándar (Ácido Gálico)	-	100 µL	-
Muestra Problema	-	-	100 µL
Reactivo Folin-Ciocalteu 0,2 N	500 µL	500 µL	500 µL
Agregar y esperar de 3 a 5 minutos			
Na₂CO₃ 7,5% w/v	400 µL	400 µL	400 µL
Agregar y dejar en reposo durante una hora en oscuridad. Leer a 765 nm.			

3.8 Determinación de la actividad antioxidante en el extracto

Para evaluar la actividad antioxidante se determinó por el método reducción del 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Un volumen de 800 µL de la solución metanólica de DPPH al 40%, se mezcló con 400 µL del extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, disuelto en alcohol etílico al 96°, la mezcla se homogenizó y dejó en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis marca: Thermo Scientific, modelo: GENESYS 10S UV-Vis. La reducción del reactivo es

seguida midiendo la disminución de la absorbancia espectrofotométricamente a 517 nm. Todos los análisis fueron realizados por triplicado (n=3). El extracto liofilizado fue evaluado a diferentes concentraciones de 10,4; 20,8; 41,7 µg/mL. Se utilizó como solución patrón Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico). Se calculó el porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \frac{(\text{Abs. DPPH} - \text{Abs. Muestra})}{\text{Abs. DPPH}} \times 100$$

Se calculó el IC50 (concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el DPPH) del extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris y del estándar Trolox®. Los resultados fueron procesados utilizando el programa MINITAB. Fueron analizados estadísticamente mediante la prueba t-student y ANOVA. Los resultados expresados como valores promedio +/- desviación estándar (DS) (Tabla 4).

Tabla 4. Preparación de tubos por el método de DPPH

	Tubo Blanco	Tubo Control DPPH	Tubo Muestra Problema
Metanol	800 µL	-	-
Solvente M.P.	400 µL	400 µL	-
Muestra Problema	-	-	400 µL
DPPH	-	800 µL	800 µL
Reposar por 30 minutos alejado de la luz. Leer a 517 nm			

3.9 Formulación de la crema dermocosmética con el extracto

Se diseñó una crema dermocosmética en donde se empleó el extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris a diversas concentraciones. Se prepararon 03 cremas a las cuales se adicionó el extracto en concentraciones de 0,5%; 1,5% y 3,0% respectivamente.

Además se elaboró una cuarta crema a la que no se le agregó extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris (crema base). (Tabla 5).

Tabla 5. Formulación de la crema

N°	Materias Primas	Porcentaje (%)
1	Alcohol cetearílico, Lauril sulfato de sodio y Cetearil sulfato de sodio	10
2	Miristato de Isopropilo	5
3	Vaselina Líquida	5
4	Alcohol cetílico	0,5
5	EDTA	0,05
6	Fenoxietanol, Metilparabeno, Etilparabeno y Propilparabeno	0,8
7	Agua c.s.p	100

3.10 Determinación de la actividad antioxidante en la crema dermocosmética.

Para evaluar la actividad antioxidante se determinó por el método reducción del 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Se utilizó aproximadamente 260 mg de crema. Un volumen de 800 µL de la solución metanólica de DPPH al 40%, se mezcló con 400 µL de solución muestra, la mezcla se homogenizó y dejó en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis marca: Thermo Scientific, modelo: GENESYS 10S UV-Vis. La reducción del reactivo es seguida midiendo la disminución de la absorbancia espectrofotométricamente a 517 nm. Todos los análisis fueron realizados por triplicado (n=3). La crema dermocosmética fue evaluado a diferentes concentraciones de 0,5%; 1,5%; 3,0%. Se calculó el porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \frac{(\text{Abs. DPPH} - \text{Abs. Muestra})}{\text{Abs. DPPH}} \times 100$$

Se calculó el IC50 (Concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el DPPH). Los resultados fueron procesados utilizando el programa MINITAB. Los resultados expresados como valores promedio +/- desviación estándar (DS).

3.11. Control de calidad de la crema dermocosmética con el extracto

El control de calidad se realiza analizando los siguientes aspectos para que se cumplan las características físico-químicas y exigencias organolépticas, microbiológicas y toxicológicas de la crema (Cardenas L. y Milena L., 2007).

3.11.1 Análisis organoléptico

Aspecto: Se observó visualmente y con ayuda de una espátula se removió la muestra para ver su homogeneidad y se tomó entre dos placas porta objetos una cantidad pequeña para ver si su aspecto era normal o si había una variación (Enríquez M., 2015). Se determina observando contra luz la presencia de partículas y/o turbidez se analiza mediante visualización directa (Guevara E., (2012).

Color: Se toma una pequeña cantidad de muestra en un vaso de vidrio bien limpio y seco y se observa el color, se informa los resultados (Guevara E., 2012).

Olor: Con una tira de papel secante se introduce en un extremo de la muestra, se percibe y se determina las características de olor presente en el producto (Guevara E., 2012).

3.11.2 Análisis fisicoquímico

Determinación de la presencia de grumos: Tomar una pequeña cantidad de crema con los dedos y aplicar suavemente en el dorso de la mano y observar si hay la presencia o ausencia de grumos (Soto H., 2014).

Determinación de untuosidad al tacto: Tomamos una pequeña cantidad de crema con los dedos y aplicamos suavemente en el dorso de la mano y observar si hay presencia de arenosidad (Soto H., 2014).

Determinación de pH: Se realizó una determinación potenciométrica previa calibración del equipo con soluciones buffer de pH 4 y pH 7. La calibración o verificación del sistema de medición de pH debe realizarse periódicamente. El desempeño histórico del sistema de medición, la criticidad de la medición de pH, el mantenimiento del sensor de pH y la frecuencia de la operación de medición se usan para determinar la frecuencia de la calibración/verificación (USP 40-NF 35., 2017). Una vez calibrado, se realizó la medición del pH de cada muestra, se sumergió el electrodo en 10 g de crema durante 1 minuto (Yaringaño J., 2015). (Figura 4).



Figura 4. Soluciones buffer pH 4; 7 y 10.

3.11.3 Análisis microbiológico

No todos los análisis se describe a continuación necesariamente se llevará a cabo, sin embargo, el recuento de microorganismo aerobios mesófilos, enriquecimiento del cultivo y el recuento de hongos se debe realizar de forma rutinaria (Cevallos M., 2013).

Se utilizó los métodos descritos en la Farmacopea USP40 para el control microbiológico de productos no estériles: Pruebas de recuento microbiano.

(1) Dilución y homogenización de las muestras:

Disolver o diluir (por lo general se prepara una dilución 1 en 10) del producto a examinar en Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7,2 (USP 40-NF 35., 2017). Pesar 1 g de crema y se agregaron a tubos con 9 mL de buffer fosfato pH 7,2. Posteriormente agitar manualmente. Realizar diluciones seriadas en base 10 (Figura 5).



Figura 5. Dilución de muestra de crema.

(2) Método de recuento en placa:

Preparar la muestra empleando un método cuya aptitud se haya demostrado según se describe en Prueba de Promoción del Crecimiento y Aptitud del Método de Recuento. Preparar al menos dos placas de Petri para cada medio por cada nivel de dilución (Figura 6). Incubar las placas de Agar Digerido de Caseína y Soja a una temperatura entre 30° y 35° durante un período de 3 a 5 días y las placas de Agar Sabouraud Dextrosa a una temperatura entre 20° y 25° durante un período de 5 a 7 días. Escoger las placas correspondientes a una dilución determinada y que muestren el mayor número de colonias, menor de 250 para el RTMA y 50 para el RTCHL (USP 40-NF 35., 2017).

Los resultados del análisis microbiológico se compararon con: Parámetros que especifiquen los límites de contenido microbiológico, de acuerdo con los riesgos de los productos cosméticos (CAN., 2012); permitidos por la Resolución 1482 de la Comunidad Andina (Tabla 6).

Tabla 6. “Artículo 2.- Incorporar como Anexo I de la Resolución 797 los siguientes cuadros: (CAN, 2012)

ÁREA DE APLICACIÓN Y FASE ETARIA	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Productos para uso infantil. ▪ Productos para Área de ojos. ▪ Productos que entran en contacto con las membranas mucosas. 	<ul style="list-style-type: none"> a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 1×10^2 UFC/g o ml. b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1g o ml. c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1g o ml. d. Ausencia de <i>Coliformes totales</i>, en 1g o ml.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Demás productos cosméticos susceptibles de contaminación microbiológica. 	<ul style="list-style-type: none"> a. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 1×10^3 UFC/g o ml. b. Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1g o ml. c. Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1g o ml. d. Ausencia de <i>Coliformes totales</i>, en 1g o ml.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Productos a ser utilizados en los órganos genitales externos 	<ul style="list-style-type: none"> a. Ausencia total de <i>Candida Albicans</i>.



Figura 6. Preparación de placas petri para cada medio por cada nivel de dilución.

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

En este capítulo se expondrán mediante cuadros, los datos experimentales y los resultados obtenidos en la formulación, elaboración y control de calidad de la crema (Guevara E., 2012).

4.1.1 Extracción y rendimiento

Se realizó el porcentaje de rendimiento del extracto etanólico de liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, según se indica en la Tabla 7.

Tabla 7. Porcentaje de rendimiento del extracto Et/OH de *Gentianella dianthoides*

	Peso de planta seca	Peso de Extracto	% de Rendimiento
Planta	115 g	13,49 g	11,73%

4.1.2 Caracterización química:

La composición química mediante el análisis fitoquímico realizado al extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris permitió identificar las familias de los compuestos químicos más abundantes en la especie, y que pudieran ser responsables de su actividad biológica. Estos resultados se muestran en la Tabla 8 (Gonzáles K., 2010).

Tabla 8. Análisis fitoquímico del extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

Metabolito	Prueba o reacción	Extracto Et/OH de <i>Gentianella dianthoides</i>
Flavonoides	Shinoda	Presencia
Compuestos Fenólicos	Tricloruro Férrico	Presencia
Taninos	Gelatina	Ausencia
	Dicromato de potasio	Ausencia
	Hipoclorito de sodio	Ausencia
Alcaloides	R. Dragendorff	Ausencia
	R. Bertrand	Ausencia
Saponinas	Prueba de Espuma	Presencia
Esteroides	Liebermann	Ausencia
Antraquinonas	Borntrager (Krauss)	Presencia

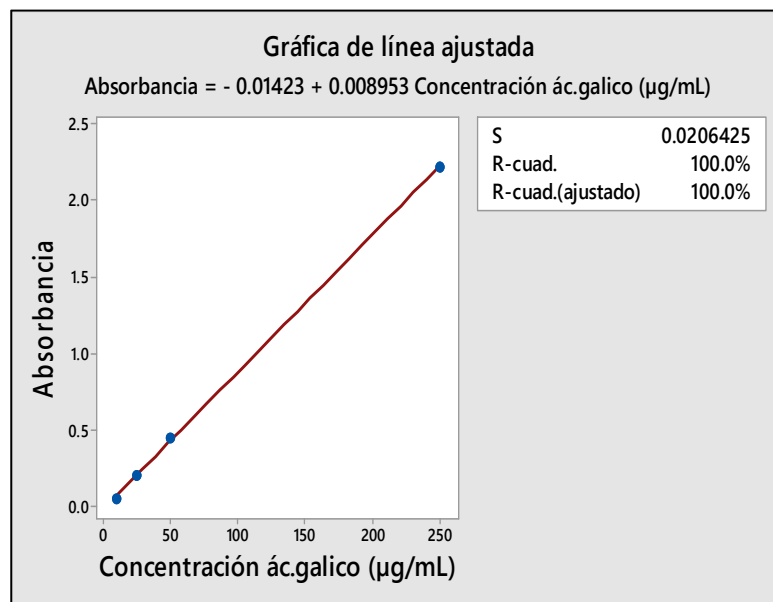
4.1.3 Determinación de polifenoles totales en el extracto:

Se midió la absorbancia de las soluciones de ácido gálico patrón (ver tabla 9). Con estos datos se elaboró la curva patrón respectiva (Figura 7).

Tabla 9. Absorbancias del estándar de Ácido Gálico a 765 nm.

Concentraciones (µg/mL)	Absorbancia promedio
10	0,0551
25	0,2129
50	0,4539
250	2,2203

Figura 7. Curva de calibración del estándar Ácido Gálico.



Empleando la siguiente fórmula se relacionó la concentración de ácido gálico con la absorbancia (Cruzado M., 2013).

$$(\text{Ácido gálico}) = \frac{(\text{Absorbancia} + 0,0099)}{0,0089}$$

Para el análisis se utilizó la muestra liofilizada de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris. En la tabla 10 se observa la absorbancia promedio del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, el cual se sustituye en la ecuación de la recta de calibrado (valor de la ordenada, “y”) y despejar “x” que corresponde a la concentración de ácido gálico en el extracto. Para expresar los resultados en mg de ácido gálico por g de extracto, se ha tenido en cuenta la cantidad de disolvente empleado en la extracción y la cantidad de muestra utilizado en el análisis.

Tabla 10. Contenido de polifenoles totales (CPT) del extracto Et/OH de *Gentianella dianthoides*

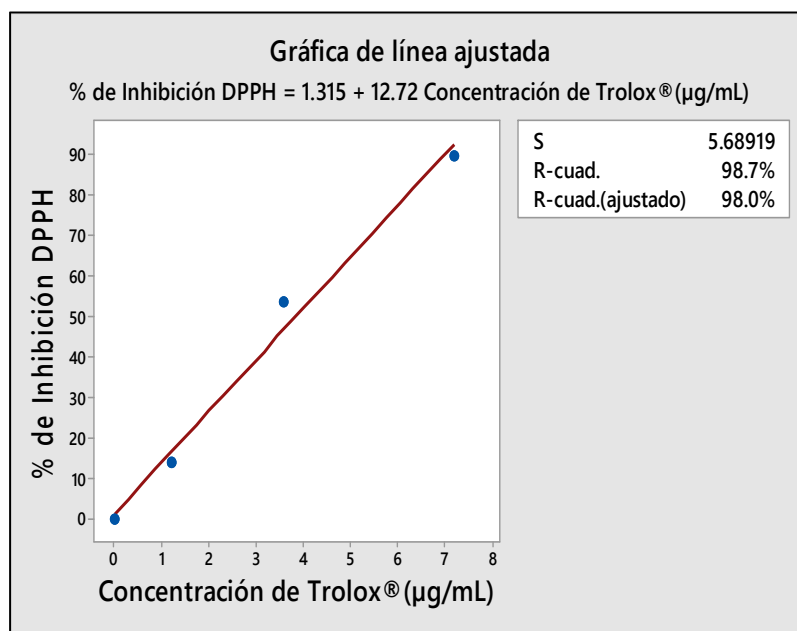
Extracto etanólico	Absorbancia promedio	CPT (mg de equivalentes de ácido gálico/g de extracto)
<i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris	0,4796 ± 0,037	10,0365

4.1.4 Determinación de la actividad antioxidante en el extracto:

En la tabla 11 se presentan los porcentajes de actividad antioxidante a diferentes concentraciones de Trolox® (ácido 6-hidroxi - 2, 5, 7, 8 - tetrametilcromo - 2 -carboxílico) (Calderón J. A., 2011). Con estos datos se elaboró la curva de calibración del Trolox® (Figura 8).

Tabla 11. Porcentaje de inhibición de DPPH del estándar Trolox®

Concentraciones de Trolox® (µg/mL)	Absorbancia promedio	% Inhibición DPPH	IC 50 (µg/mL)
0	0,701	0,0	3,8
1,2	0,603	14,03	
3,6	0,322	54	
7,2	0,071	89,9	

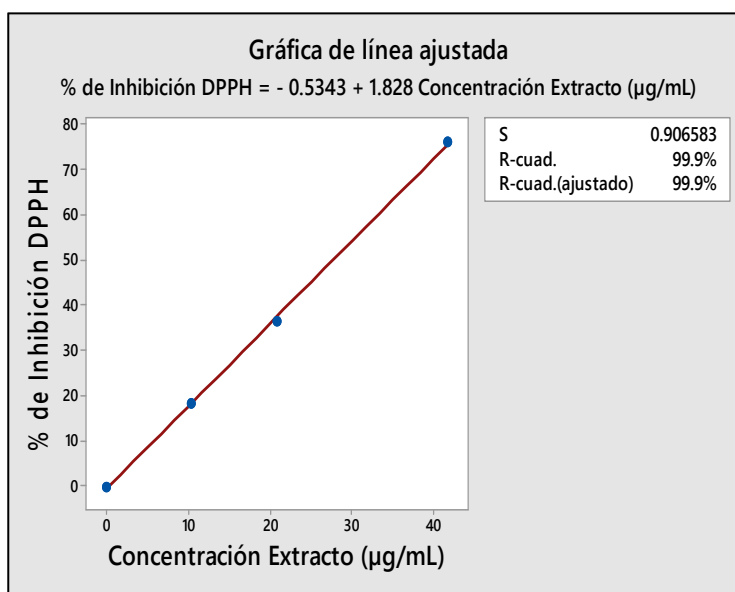
Figura 8. Curva de calibración del estándar Trolox®.

El coeficiente de correlación de Pearson entre la concentración del Trolox® y su porcentaje de actividad antioxidante en la curva de calibración fue de 0,993, indicando una buena linealidad a las concentraciones ensayadas y confiabilidad en los datos (Figura 9).

Tabla 12. Porcentaje de inhibición de DPPH del extracto Et/OH de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris

Concentraciones ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia promedio	% Inhibición DPPH	IC 50 ($\mu\text{g/mL}$)
0	$0,4542 \pm 0,009$	0,0	27,64
10,41	$0,3703 \pm 0,014$	18,48	
20,83	$0,2884 \pm 0,002$	36,51	
41,66	$0,1083 \pm 0,005$	76,16	

Figura 9. Curva de calibración del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides*.



4.1.5 Formulación de la crema dermocosmética con el extracto:

Para formular la crema dermocosmética se empleó el extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris. Se tuvo dos fases A y B, se calentaron a 70°C, se vertió la fase A sobre la fase B. se dejó enfriar hasta una temperatura de 40°C. Se incorporó el extracto en concentraciones de 0,5%; 1,5% y 3,0% previamente pesados y disueltos en propilenglicol (Figura 10 y 11).



Figura 10. Pesaje de los extractos de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

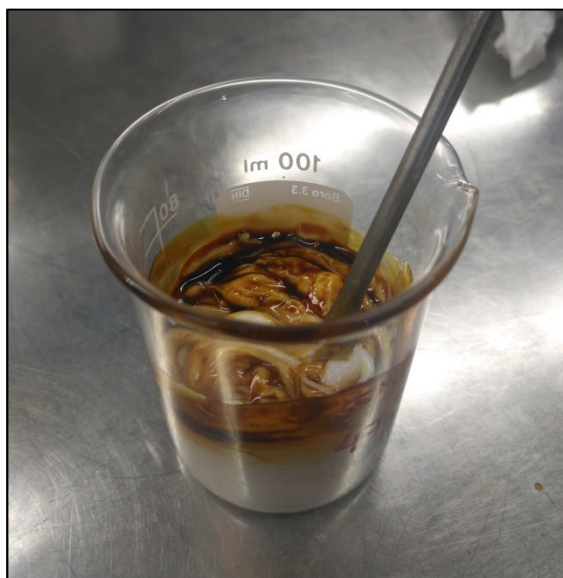


Figura 11. Incorporación del extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

Se formularon 03 cremas dermocosmética a las cuales se adicionó el extracto en concentraciones de 0,5%; 1,5% y 3,0% respectivamente (Figura 12).



Figura 12. Formulación de 03 cremas dermocosméticas.

4.1.6 Determinación de la actividad antioxidante en la crema dermocosmética:

En la tabla 13 se presentan los porcentajes de actividad antioxidante de las 03 cremas dermocosméticas al 0,5%; 1,5% y 3,0% (Tabla 13).

Tabla 13. Porcentaje de inhibición de DPPH de la crema dermocosmética al 0,5%; 1,5% y 3,0%.

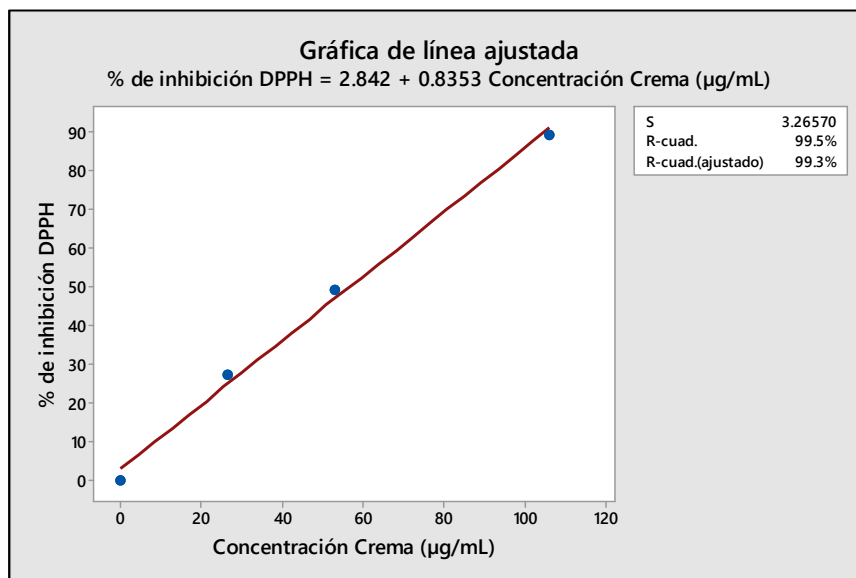
Crema dermocosmética (%)	Absorbancia promedio	% Inhibición DPPH
0	0,4339 \pm 0,015	0,0
0,5	0,3586 \pm 0,006	17,35
1,5	0,1547 \pm 0,006	64,34
3,0	0,0483 \pm 0,004	88,87

Se observa mejor % de inhibición en la crema dermocosmética al 3,0% (Tabla 13). La crema dermocosmética al 3,0% fue evaluado a diferentes concentraciones de 26,5; 53 y 106 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados se expresaron como valores de porcentaje de capacidad antioxidante y de concentración media inhibitoria (IC_{50}) (Aparcana I. y Villareal L., 2014) (Tabla 14).

Tabla 14. Porcentaje de inhibición de DPPH de la crema dermocosmética al 3,0%

Concentraciones ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia promedio	% Inhibición DPPH	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
0	0,4339 \pm 0,015	0,0	56,87
26,5	0,3157 \pm 0,036	27,25	
53	0,2196 \pm 0,023	49,39	
106	0,0448 \pm 0,078	89,68	

Figura 13. Curva de calibración de la crema al 3,0% con extracto *Gentianella dianthoides*.



4.1.7 Control de calidad de la crema dermocosmética con el extracto

El control de calidad tiene como propósito determinar si las formas cosméticas poseen las características de calidad establecidas previamente.

(1) Análisis organoléptico

Los tres productos elaborados presentaron propiedades organolépticas deseables, aunque no existe ninguna norma o especificación oficial que proponga como deben ser las características físicas de estos cosméticos, en el laboratorio se cuenta con una tabla que las indica en la ficha de cada producto (Lorenzo M., 2014). Se comparó el olor de cada una de las muestras directamente a través del olfato y se

anotaron los resultados (Valencia K. y Vilca E., 2015) al igual que el aspecto y color respectivamente (Tabla 15).

(2) **Análisis fisicoquímico**

Para las cremas elaboradas se realizó los ensayos fisicoquímicos de presencia de grumos y untuosidad al tacto los cuales fueron conformes. Los resultados del pH de la crema (Tabla 15) obtenido se encuentran dentro del rango especificado en un rango de pH 5,0 a 7,0. Nos indica que el pH de la crema es ácido, y esto favorece a la estabilidad de los flavonoides presentes en la crema, también ayuda a establecer que tiene un pH similar al de la piel, por consiguiente presenta una favorable utilidad para la piel (Yambay P., 2013) (Figura 14).



Figura 14. Determinación de pH de las cremas

Cada producto elaborado cumple con las especificaciones establecidas las mismas que se encuentran en el cuadro adjunto al igual que los resultados de las pruebas realizadas (Enríquez M., 2015) (Tabla 15).

Tabla 15. Resultados de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de las crema dermocosméticas a base de extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

	Especificación	Crema base	Crema 0,5%	Crema 1,5%	Crema 3,0%
Aspecto	Crema homogénea	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Color	Blanca a crema	Blanca	Crema	Crema	Crema
Olor	Característico	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Presencia de grumos	Ausencia	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Untuosidad al Tacto	Untuoso	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
pH	5,0 - 7,0	6,44	6,44	6,24	5,86

(3) Análisis microbiológico

El control microbiológico de los productos cosméticos no estériles involucró la realización de dos tipos de ensayo: Recuentos microbianos, Investigación de microorganismo específicos (Enríquez M., 2015). Ninguno de los productos mostró contaminación microbiana, a los microorganismos *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, ni tampoco a hongos (Juárez J., 2008). Estos resultados correspondientes a *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, expresaron AUSENCIA de estos microorganismos; lo cual indica que se ha elaborado el producto en condiciones sanitarias óptimas. El límite máximo permitido para los aerobios mesófilos, mohos y levaduras es < 100 UFC/g y < 10 UFC/g respectivamente. Se observa que las cremas

dermocosméticas cumplen con las especificaciones (Inocente C. M., 2015) (Figura 15) (Tabla 16).

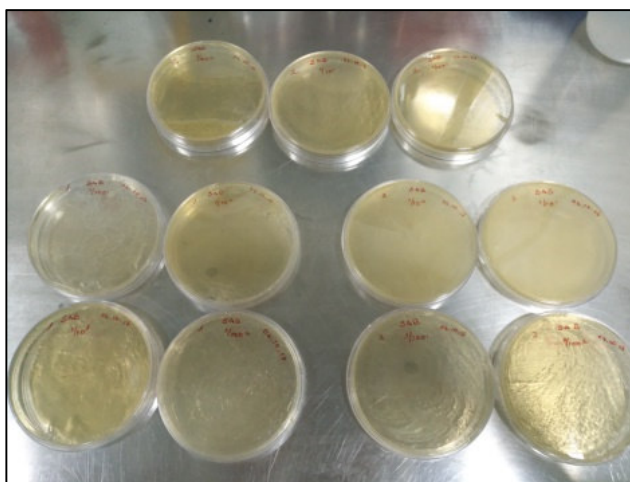


Figura 15. Análisis microbiológico de las cremas dermocosméticas

Tabla 16. Resultados del análisis microbiológico de las cremas dermocosméticas a base de extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris.

Análisis Microbiológico	Especificaciones	Crema 0,5%	Crema 1,5%	Crema 3,0%
Recuento total de microorganismo aerobios	$< 10^2$ UFC/g	< 10	< 10	< 10
Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras	$< 10^1$ UFC/g	< 10	< 10	< 10
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia/g	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia/g	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia/g	Ausente	Ausente	Ausente

4.2 Discusión

Como puede observarse el análisis fitoquímico arrojó abundante contenido de flavonoides y compuestos fenólicos, a los que se les atribuye actividad antioxidantes (Aparcana I. y Villareal L., 2014); además, contenido moderado de antraquinonas y contenido leve de saponinas; en tanto que no se hallaron taninos, alcaloides, ni esteroides.

Los resultados obtenidos en la determinación de polifenoles totales por el método de Folin – Ciocalteu mostraron que la cantidad de polifenoles en la *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris es de 10,0365 mg/g de extracto. Por medio del análisis estadístico se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson (r) de 1,000 y un coeficiente de determinación (r^2) de 0,9997. El valor de $t_{\text{regresión}} = 84,17$ y un valor de $p = 0,000$. Se verificó que existe correlación lineal y significativa. Con referencia al contenido de polifenoles del extracto acuoso de la *Gentianella nítida* de 65,8 mg/g (Carbonel K., 2016) fue superior sobre el extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* que muestra un valor de 10,0365 mg/g. Este mayor valor podría explicarse por la diferencia de especies de *Gentianella*, del método de extracción de metabolitos secundarios polifenólicos realizado o por los protocolos seguidos que varían en las proporciones de reactivos, concentraciones y tiempos de medición, lo cual difiere de nuestro estudio.

Por otro lado, se debe considerar que la planta de *Gentianella nítida* fue recolectada en el Distrito de Ulcumayo, Provincia de Junín y Departamento de Junín (Carbonel K., 2016) mientras que la planta *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris fue recolectada en el Distrito de Bambamarca, Provincia de Hualgayoc y Departamento de Cajamarca, lo que podría explicar la diferencia en la concentración de polifenoles.

Para los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH, se calculó el IC 50 del Trolox® (3,8 $\mu\text{g/mL}$) y del extracto etanólico (Tabla 8) a partir de la ecuación del análisis de regresión. Un valor bajo de IC 50 indica alto poder antioxidante. El

Trolox®, como estándar, siempre exhibirá un menor valor de IC 50 a comparación del extracto (Hurtado P., 2015), que en este caso fue de 27,65 µg/mL.

Los resultados fueron analizados estadísticamente, se evaluaron las concentraciones de Extracto vs porcentaje de inhibición DPPH encontrada, en la figura 3, se observa la ecuación de la recta, obteniéndose:

$$y = - 0.5343 + 1.828 x$$

La estadística de regresión, tal como se expresa en la Tabla 17.

Tabla 17. Análisis de regresión

Estadísticas de la regresión	
Correlación de Pearson	1,000
R-cuad.	0,9995
R-cuad. (ajustado)	0,9959
S	0,906583

Se obtuvo un coeficiente de correlación de Pearson (r) de 1,000 y un coeficiente de determinación (r^2) de 0,9995. El coeficiente de determinación nos indica que existe una buena linealidad y aporta mayor significación estadística (Tabla 9). Mediante la prueba t-student y ANOVA. Se halló el estadístico “t” junto con un test de varianza. El valor de $t_{regresión} = 62,13$, demostrando que la correlación es lineal y significativa. El valor de $p = 0,000$ demostrando que el análisis de varianza nos muestra que existe alta correlación por lo que el método es lineal.

Comparando los datos reportados de capacidad antioxidante $IC_{50} = 145 \mu\text{g/mL}$ para la *Gentianella nítida* (Carbonel K., 2016) con los datos de capacidad antioxidante $IC_{50} = 27,64 \mu\text{g/mL}$ para la *Gentianella dianthoides*, puede proponerse que esta última tendría mayor capacidad antioxidante que la *Gentianella nítida*, aun cuando el contenido de polifenoles es menor. Puede sugerirse que estos metabolitos oxigenados muestran capacidad antioxidante o tal vez el extracto puede contener otros metabolitos secundarios diferentes que contribuyen a la actividad antioxidante (Carbonel K., 2016).

Se diseñó cremas dermocosméticas a base de extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris. Para la formulación de la base de la crema dermocosmética se decidió trabajar con una base autoemulsionable la cera lanette SX (Yaringaño J., 2015). El uso de la cera lanette SX hizo que nuestra crema sea consistente y quedé impregnada en la piel para lograr su efecto. Según el Handbook of Pharmaceutical Excipients (Rowe R., 2009) la cera lanette SX contiene 90 partes de alcohol cetosteárilico y 10 partes de lauril sulfato de sodio. A esta base se agregó el extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris en concentraciones de 0,5%; 1,5% y 3,0%. La actividad antioxidante de la crema dermocosmética con el extracto se determinaron utilizando la técnica con el radical libre estable DPPH⁺ (Junes R., 2017). Para este fin, se prepararon soluciones de concentraciones comprendidas en un rango de 26,5 a 106,0 $\mu\text{g/mL}$ de crema dermocosmética al 3,0%; observándose que, a medida que aumenta la concentración, aumenta también la capacidad antioxidante (Tabla 14), es decir hay una relación directa entre la concentración de la muestra y su actividad antioxidante (Junes R., 2017). El valor de IC_{50} de la crema con extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris fue 56,87 $\mu\text{g/mL}$, este valor es mayor comparando con los datos reportados de capacidad antioxidante $IC_{50} = 20170 \mu\text{g/mL}$ de la crema con extracto de noni, acaí y acerola (Zapaille M., 2013).

En el estudio de la crema se evaluaron los siguientes parámetros: características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas (Tabla N° 15

y 16). La evaluación de las características organolépticas se realizó por medio del análisis sensorial. Al evaluar el aspecto de la crema se realiza mediante visualización directa para ver su homogeneidad siendo una crema homogénea. El color característico de blanco a crema se debe a la concentración de 0,5%; 1,5% y 3,0% del extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, siendo la concentración de 3,0% el color más intenso; teniendo todas las cremas un olor característico. Para las características fisicoquímicas se evaluó la presencia de grumos y untuosidad al tacto, siendo los resultados donde no hay presencia de grumos y teniendo una buena untuosidad lipofílica. Los resultados de pH de la crema dermocosmética, se encuentran en un rango de 5,0 a 7,0. Lo cual indica que se encuentran en condiciones favorables para la piel humana (Inocente M., 2014). Del análisis microbiológico de la crema dermocosmética (Tabla N° 16), nos indica que los productos han sido elaborados en condiciones sanitarias óptimas, demostrado con la ausencia de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. El límite máximo permitido para los aerobios mesófilos, mohos y levaduras es < 100 UFC/g y < 10 UFC/g respectivamente, cumpliendo con las especificaciones establecidas.

CAPITULO V: CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris contiene polifenoles siendo el valor de 10,0365 mg de equivalentes de ácido gálico/g de extracto (CPT).
- La determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH demostró que el extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris presenta mayor actividad antioxidante, con un IC 50= 27,64 µg/mL. La capacidad antioxidante encontrada en *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris está relacionada directamente con la presencia de polifenoles totales y flavonoides determinados en la muestra, esto de acuerdo a los resultados obtenidos.
- Se comprobó la actividad antioxidante de la crema dermocosmética con extracto de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris, obteniéndose un menor valor de IC50= 56,87 µg/mL respecto a una crema comparada. Además se concluye que la planta *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris posee propiedades antioxidantes. La crema dermocosmética con extracto liofilizado de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris cumple con las especificaciones organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas establecidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez Castro, E. y Orallo Cambeiro F. (2003). *Actividad biológica de los flavonoides. Acción frente al cáncer*. Revista de la oficina de farmacia, 22 (10), 130-140.
- Aparcana Ataurima, I. y Villarreal Inca, L. (2014). *Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de Physalis peruviana "aguaymanto" de diferentes lugares geográficos del Perú*. (Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.
- Bautista, M., Delfin, A., Márquez, G., Ramírez J. y Rivas M. (2011). *Formulación de una emulsión dermocosmética para el tratamiento del acné y cicatrices*. (Proyecto final). Laboratorio de Formulación, Interfases, Reología y Procesos. Facultad de Ingeniería. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.
- Bermúdez Díaz, L. (2015). *Evaluación fitoquímica y comparación del efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de Gentianella bicolor (Wedd.) Fabris ex J.S. Pringle, Gentianella nítida, Gentianella chamuchuí y Smalanthus sonchifolius en Rattus rattus*. (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Bermúdez Díaz, L. y Huamán Saavedra, J. (2015). Evaluación del efecto hipoglucemiante de *Gentianella bicolor* (Corpus huay), *Gentianella nítida* (Hercampuri) y *Gentianella chamuchui* (Genciana) en *Rattus rattus*. *Revista Ciencia y Tecnología*, 11 (2), 93-103.
- Bussman, R. y Sharon, D. (2015). *Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. La flora mágica y medicinal del Norte del Perú*. Centro William L. Brown – Jardín Botánico de Missouri. Trujillo. Perú.
- Calderón Hernández, J. A. (2011). *Caracterización Fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y santa rosa de cabal (Risaralda)*. (Trabajo de grado para optar al título de Tecnóloga Química). Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira. Colombia.

- Camacho Valencia, D. (2013). *Determinación de la capacidad antioxidante de Rubus Robustus (Zarzamora) por cromatografía líquida de alta performance con 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil*. (Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico). Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas. Universidad Católica de Santa María. Arequipa. Perú.
- Carbonel Villanueva, K., Suárez Cunza, S., y Arnao Salas, A. (2016). Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto de Gentianella nítida. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77 (4), 333-337.
- Cardenas Vallejo, L. y Rojas Gomez L. (2007). *Elaboración de crema antiestrias a partir de productos naturales a escala de laboratorio*. (Tesis de grado para optar el título de Ingeniero de Procesos). Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería de Procesos. Universidad EAFIT. Medellín. Colombia.
- Castillo, S., Salinas, N., León, B. y Sánchez, I. (2006). El libro rojo de las plantas endémicas del Perú: Gentianaceae endémicas del Perú. *Revista Peruana de Biología*, 13(2), 339s-354s. Recuperado de: SISBIB, <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVrevistas/biologia/v13n2/Contenido.htm>.
- Cevallos Medina, M. (2013). *Elaboración y control de calidad de una crema corporal hidratante a base de mucílagos y aromas naturales*. (Tesis de grado para optar el título de Bioquímico Farmacéutico). Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.
- Cobos Yanez, D. (2015). *Elaboración de una crema nutritiva facial a base de la pulpa de chirimoya (Annona cherimola, Annonaceae)*. (Tesis previa a la obtención del título de Magíster en Ciencias y Tecnologías Cosméticas). Universidad Politécnica Salesiana. Quito. Ecuador.
- Comunidad Andina (2012). Resolución 1482. Modificación de la Resolución 1418. Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos. Pág. 1 – 2.
- Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N. y Cedrón, J. (2013). Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus L.*). *Revista Sociedad Química del Perú*, 79 (1), 57-63.
- Departamento de Inteligencia de Mercados – PROMPERU (2017). Informe Especializado: Tendencias en Ingredientes Naturales para la Industria Cosmética - Mundo. Pág. 2 – 5.

- Echevarría, A., D'Armas, H., Nubia, Lisbeth., Matute, Lisbeth., Jaramillo, C., Rojas, L. y Benitez, R. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. *Revista Ciencia UNEMI*, 9 (20), 29-35.
- Enríquez Núñez, M. (2015). *Determinación de la eficacia despigmentante de dos productos cosméticos elaborados uno con Arbutina y el otro con una combinación de Arbutina y Pteria sterna, en pacientes con melasma de la fundación ecuatoriana de la psoriasis, Quito*. (Tesis previa la obtención del Título de Magíster en Ciencias y Tecnologías Cosméticas). Unidad de Posgrado. Universidad Politécnica Salesiana. Quito. Ecuador.
- Farmacopea de los Estados Unidos de América y Formulario Nacional USP 40 NF 35. Pruebas Físicas / <791> pH; <61> Examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas de recuento microbiano. Versión en Español 2017. Pág. 721 – 725; Pág. 130 – 136.
- Gallardo Garrido, A. (2015). *Actividad antioxidante y efecto ansiolítico de extractos secos estandarizados de Melissa officinalis y Rosmarinus officinalis en ratas Sprague Dawley*. (Memoria de título para optar al título de Bioquímico). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago. Chile.
- Galvez, H. (2013). *Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de productos comerciales a base de Té Verde que se comercializan en la ciudad de Arequipa*. (Tesis de grado para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Facultad de Ciencias Bioquímicas Farmacéuticas y Biotecnológicas. Universidad Católica de Santa María. Arequipa. Perú.
- Giurfa Tutaya, G. y Oblitas Barboza, J. (2017). *Polifenoles, actividades antioxidante, antielastasa, anticlagenasa, efecto fotoprotector de Lessonia nigrescens Bory y desarrollo de una forma dermocosmética*. (Tesis de grado para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.
- González García, K., Valdés Iglesias, O., Laguna, A., Díaz Martínez, M. y González Lavaut, J. (2010). Efecto antioxidante y contenido polifenólico de *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae). *Revista de Biología Tropical*, 59 (1), 465-472.

- Guevara Galárraga, E. (2012). *Saponinas triterpénicas de la Quinoa (Chenopodium quinoa willd) en la elaboración de una crema con actividad exfoliante*. (Tesis de grado previa la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico). Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.
- Hurtado Manrique, P., Jurado Teixeira, B., Ramos Llica, E., Calixto Cotos, M. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de Juglans neotropica Diels (Nogal Peruano). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 81 (3), 283-291.
- Inocente Camones, M., Tomas Chota, G., Huaman Malla, J., Muñoz Jáuregui, A., García Morán, R., Quispe Fuentes, G., Palomino Pacheco, C. y Taype Espinoza, E. (2014). Actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de camu camu (*Myrciaria dubia* Kunth.). *Revista Sociedad Química del Perú*, 80 (1), 65-77.
- Inocente C. M., Tomas Ch. G., Huamán M. J., Palomino P. M. y Bonilla R. P. (2014). Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK). *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 17 (2), 27-33.
- Juárez Eyzaguirre, J. (2008). *Obtención y purificación de la manteca de cerdo: diseño y formulación de bases dermocosméticas para la incorporación de extractos vegetales*. (Tesis para optar el grado académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima. Perú.
- Junes Olivera, R. (2017). *Evaluación de la actividad antioxidante in vitro y efecto regenerador in vivo de una crema cosmética con extracto liofilizado de mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón)*. (Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.
- Lock Sing, O. (2009). Flora Andina y Amazónica: Un aporte a su conocimiento químico. *Boletín Academia Nacional de Ciencias*, 03, 34-42.
- Lorenzo López, M. (2014). *Diseño de requisitos de Buenas Prácticas de Fabricación en la producción y control de calidad de cosméticos para el Laboratorio de Cosméticos de Santa Clara*. (Tesis presentada en opción al Título Académico de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas). Facultad de

Química-Farmacia. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Santa Clara. Cuba.

Mora Villagomez, V. (2014). *Elaboración de crema cosmética anti-edad a base de cúrcuma longa y sus características físico-químico y análisis sensorial*. (Tesis de grado para optar al título de Ingeniero Químico). Facultad de Ingeniería Química. Universidad de Guayaquil. Guayaquil. Ecuador.

Olguín G., Meléndez G., Zuñiga A. y Pasquetti A. (2004). *Antioxidantes y aterosclerosis*. Revista de Endocrinología y Nutrición. 4: 199-206.

Oliveira, G. (2014). *Capacidad antioxidante de Averrhoa carambola L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres*. (Tesis para optar el Grado Académico de Magister en Nutrición con mención en Aspectos Biológicos de la Nutrición). Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

Ortiz Rivera, S. (2015). *Elaboración de una crema antioxidante a partir de productos naturales*. (Tesis para presentar el examen demostrativo de la experiencia educativa de experiencia recepcional en el programa de Ingeniería Química). Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana. Poza Rica. México. D.F.

Pastene, E., Gómez, M., Speisky, H. Y Nuñez-Vergara, L. (2009). *Un sistema para la detección de antioxidantes volátiles comúnmente emitidos desde especias hierbas medicinales*. Química Nova, 32 (2), 482 – 487.

Rengifo Gratelli, P. (2014). *Caracterización del aceite de la semilla de palta Persea Americana Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante*. (Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

Robalino Andrade, E., y Guarderas Pérez, M. (2015). *Eficacia cosmética “In Vivo” de una emulsión formulada a partir del extracto seco de hojas de “Ficus citrifolia”*. (Tesis previa a la obtención del título de Magister en Ciencias y Tecnologías Cosméticas). Universidad Politécnica Salesiana. Quito. Ecuador.

Rodas Cardona, E., López Hurtado, K. y Tul Bautista, Y. (2010). *Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión*. (Tesis de grado para optar al título de Químicas Farmacéuticas). Facultad de

Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. London: Pharmaceutical pres; 2009.

Ruiz Florindez, C., Saucedo Villanueva, A. y Villar Velázquez, C. (2012). *Conocimientos tradicionales Plantas Medicinales de Cajamarca*. (1^{ra} ed.) Cajamarca. Instituto de Cuencas. Programa Desarrollo Rural Sostenible (PDRS).

Seminario, C. A. y Sánchez V. I. (2014). *Especies Medicinales Silvestres del Páramo Jalca con Potencial para el Biocomercio – Distrito de la Encañada – Cajamarca*. Ministerio del Ambiente. Dirección General de Investigación e Información Ambiental. Memoria Tercer encuentro de Investigadores Ambientales, Piura, Perú.

Soto Huamaní, H. (2014). *Efecto antibacteriano y antifúngico comparativo de los extractos acuosos del Zea Mays L. (maíz morado), Rubus glaucus (mora andina); Opuntia soherensii (ayrampo) y diseño de un gel de limpieza cutánea*. (Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

Valencia Gamboa, K. y Vilca German, E. (2015). *Calidad organoléptica y fisicoquímica de jabones de tocador comercializados en el Centro Comercial Albarracín de la Provincia de Trujillo 2015*. (Tesis para optar el Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Trujillo. Perú.

Vega Picón, M. (2015). *Evaluación de la eficacia del aceite esencial de Curcuma longa L. como conservante en una formulación cosmética orgánica*. (Tesis previa a la obtención del título de: Magíster en Ciencias y Tecnologías Cosméticas). Unidad de Posgrado. Universidad Politécnica Salesiana. Quito. Ecuador.

Vivaness. (2013). *La cosmética natural continúa en pleno crecimiento*. Recuperado de: <http://www.vivaness.de/de/presse/presseinformationen/?focus=es&focus2=nxps%3A%2>.

Yambay Calderón, P. (2013). *Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Berro (Nasturtium officinale) y Llantén (Plantago major) y comprobación de su actividad cicatrizante en*

heridas inducidas en ratones. (Tesis para optar Título de Bioquímico Farmacéutico). Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.

Yaringaño Moreano, J. (2015). *Formulación de una crema dermocosmética a base de Mauritia flexuosa L. f. y Copaífera reticulata var. Peruviana con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones Mus musculus Balb c.* (Tesis de grado). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

Zapaille, M. Y. (2013). *Diseño y formulación de una crema con actividad antioxidante y humectante a base del fruto del Corryocactus brevistylus "Sanky".* (Tesis de grado para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú.

IX. ANEXOS

ANEXO 1

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 7512863 RPM # 963689079
e-mail:jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

Certifica:

Que, MIGUEL ANGEL VASQUEZ HUAMAN, estudiante de la Maestría en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación científica, ha solicitado la certificación botánica de una planta procedente de Cajamarca, donde es conocida con el nombre vulgar de "lirambo", la muestra ha sido estudiada y determinada como *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris ex J.S. Pringle. Y en el Sistema de Clasificación Botánica de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Asteridae
ORDEN	: Gentianales
FAMILIA	: Gentianaceae
GENERO	: <i>Gentianella</i>
ESPECIE	: <i>Gentianella dianthoides</i> (Kunth) Fabris ex J.S. Pringle

Nombre vulgar: "lirambo", "lorambo"

Se expide la presente certificación para fines que se estime conveniente.

Lima, 26 mayo del 2017


José R. Campos De La Cruz
BIÓLOGO
C.B.P. 3796

Jirón Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07. Email: joricampos@yahoo.es

ANEXO 2

FOTOS DEL PROCEDIMIENTO DE METODOLOGÍA



Figura 16. Departamento de Cajamarca a 3000 m.s.n.m.



Figura 17. Recolección de la Planta *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris

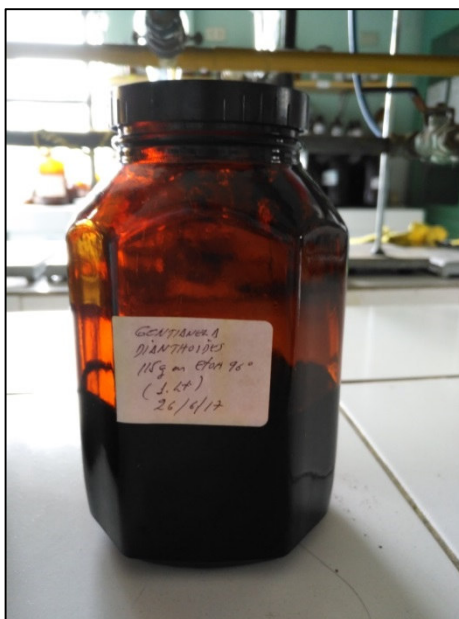


Figura 18. Maceración x 14 días del extracto etanólico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris



Figura 19. Proceso de Filtración.



Figura 20. Extracto seco de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris

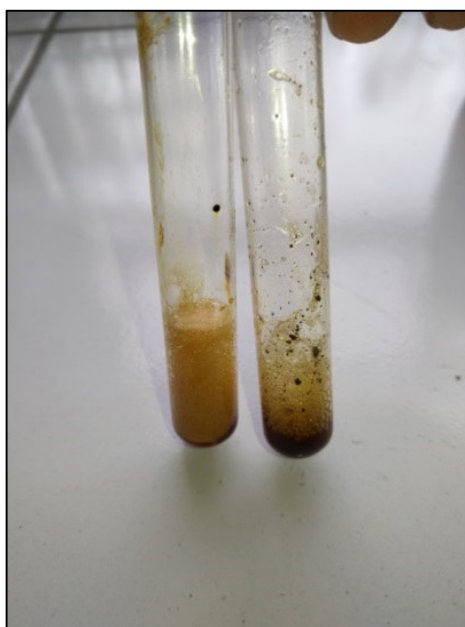


Figura 21. Tamizaje Fitoquímico de *Gentianella dianthoides* (Kunth) Fabris



Figura 22. Espectrofotómetro Uv-Vis



Figura 23. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto



Figura 24. Elaboración de la crema dermocosmética.

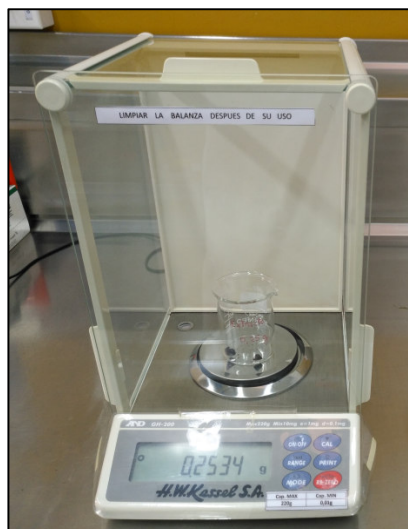


Figura 25. Balanza analítica.



Figura 26. Pesaje del extracto.

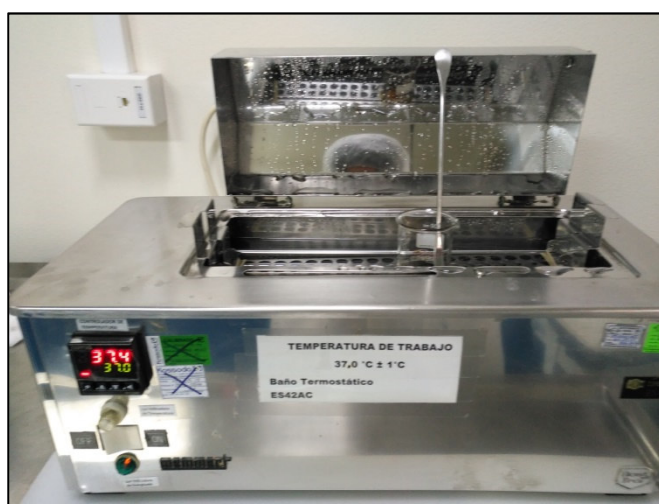


Figura 27. Baño termostático.

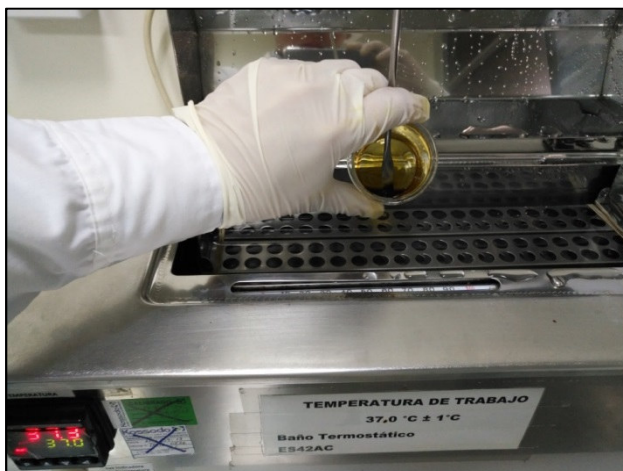


Figura 28. Disolución en propilenglicol del extracto

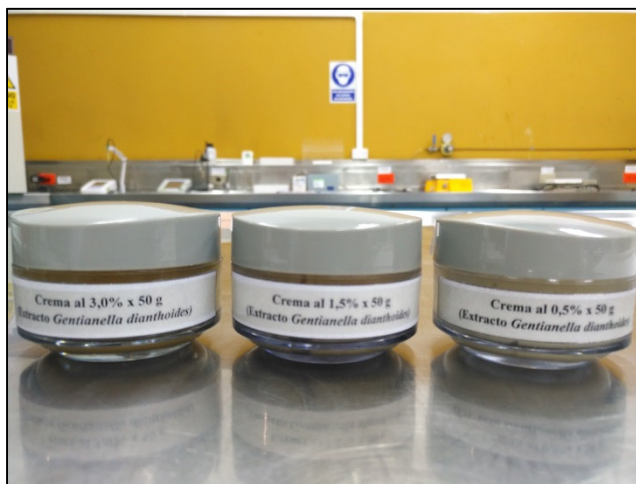


Figura 29. Producto terminado de crema dermocosmética



Figura 30. Determinación de la actividad antioxidante en la crema dermocosmética.



Figura 31. Potenciómetro.



Figura 32. Análisis fisicoquímico de la crema dermocosmética



Figura 33. Laboratorio de Microbiología, Control de calidad.



Figura 34. Cabina de flujo laminar.



Figura 35. Incubadora temperatura: $22,5 \pm 2,5$ °C.



Figura 36. Incubadora temperatura: $32,5 \pm 2,5$ °C.

ANEXO 3

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE BALANZA



Test & Control
Aseguramiento Metrológico

CERTIFICADO DE CALIBRACION
LM - 0571 - 2017

O.T. : 1273-2423

Fecha de emisión : 2017 - 07 - 24

Página : 1 de 3

SOLICITANTE: INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
Dirección : Av. José Saco Km. 13 – Carabaylo, Lima - Perú

<p>INSTRUMENTO DE MEDICIÓN : BALANZA</p> <p>Funcionamiento : No Automático</p> <p>Alcance de Escala : 0 g a 220 g</p> <p>Marca : AND</p> <p>Modelo : GH-200</p> <p>N° de Serie : 15101451</p> <p>Tipo : Electrónica</p> <p>Procedencia : Japon</p> <p>Identificación : BA21AC</p> <p>Ubicación : Laboratorio 6</p> <p>Clase : <u>I</u></p> <p>Rango : Simple</p> <p>Capacidad Máxima : 220 g</p> <p>División de Escala (d) : 0,0001 g</p> <p>División de Verificación (e) : 0,001 g</p> <p>Capacidad Mínima (*) : 0,01 g</p> <p>Fecha de Calibración : 2017 - 07 - 06</p>	<p>TEST & CONTROL S.A.C. es un Laboratorio de Calibración y Certificación de equipos de medición basado a la Norma Técnica Peruana ISO/IEC 17025.</p> <p>TEST & CONTROL S.A.C. brinda los servicios de calibración de instrumentos de medición con los más altos estándares de calidad, garantizando la satisfacción de nuestros clientes.</p> <p>Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los patrones nacionales o internacionales, de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)</p> <p>Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones se le recomienda al usuario recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados de acuerdo al uso.</p> <p>Los resultados en el presente documento no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.</p>
--	---

LUGAR DE CALIBRACIÓN
Instalaciones de INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN
La calibración se realizó por comparación directa entre las indicaciones de lectura de la balanza y las cargas aplicadas mediante pesas patrones según procedimiento PC-011 "Procedimiento para la Calibración de Balanzas de Funcionamiento No Automático Clase I y II". Cuarta Edición - Abril 2010. SNM-INDECOPI

TEST & CONTROL S.A.C. no se responsabiliza de los perjuicios que puedan ocurrir después de su calibración debido a la mala manipulación de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración declarados en el presente documento.
El presente documento carece de valor sin firma y sello.

PGC-16-r11/Febrero 2015/rev.01

Revisado: CCEB



Lic. Nicolás Ramos Páucar
Gerente Técnico
CFP: 0316



Aprobado: RPN

Jr. Condesa de Lemos N° 117 - San Miguel - Lima / Teléfono: 262-9536 / E-mail: informes@testcontrol.com.pe

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN EXPRESA DE TEST & CONTROL S.A.C.



Aseguramiento Metrológico

Certificado : LM - 0571 - 2017
Página : 2 de 3

TRAZABILIDAD

Trazabilidad	Patrón utilizado	Certificado de Calibración
Patrones de referencia Pesas E1 DM-INACAL	Pesas 1 mg a 1 kg (clase E2)	LM-C-138-2017

RESULTADOS DE CALIBRACIÓN

INSPECCION VISUAL

Ajuste de Cero	TIENE	Escala	NO TIENE
Oscilación Libre	TIENE	Indicador	NO TIENE
Plataforma	TIENE	Nivelación	TIENE
Sistema de Traba	NO TIENE	Dispositivo Indicador Auxiliar	NO TIENE

ENSAYO DE REPETIBILIDAD

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
Temperatura	21,6 °C	21,7 °C
Humedad Relativa	51,2 %	51,2 %

Medición N°	Carga (g)	I (g)	ΔL (mg)	E (mg)	Medición N°	Carga (g)	I (g)	ΔL (mg)	E (mg)
1	110,0000	110,0001	0,0	0,1	1	220,0000	220,0003	0,0	0,3
2		110,0001	0,0	0,1	2		220,0003	0,0	0,3
3		110,0001	0,0	0,1	3		220,0003	0,0	0,3
4		110,0000	0,0	0,0	4		220,0003	0,0	0,3
5		110,0000	0,0	0,0	5		220,0003	0,0	0,3
6		110,0000	0,0	0,0	6		220,0003	0,0	0,3
7		110,0000	0,0	0,0	7		220,0003	0,0	0,3
8		110,0001	0,0	0,1	8		220,0003	0,0	0,3
9		110,0001	0,0	0,1	9		220,0003	0,0	0,3
10		110,0001	0,0	0,1	10		220,0003	0,0	0,3
E _{máx} - E _{mín}			0,1 mg		E _{máx} - E _{mín}			0,0 mg	
error máximo permitido			± 2,0 mg		error máximo permitido			± 3,0 mg	



PGC-16-r11/Febrero 2015/rev.01

Revisado: CCEB

Aprobado: RPN

Jr. Condesa de Lemos N° 117 - San Miguel - Lima / Teléfono: 262-9536 / E-mail: informes@testcontrol.com.pe

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN POR ESCRITO DE TEST & CONTROL

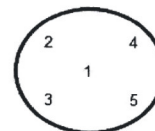


Aseguramiento Metrológico

Certificado : LM - 0571 - 2017
Página : 3 de 3

ENSAYO DE EXCENTRICIDAD

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
Temperatura	21,7 °C	21,7 °C
Humedad Relativa	51,2 %	51,2 %



N°	Determinación de Error Eo				Determinación de Error Corregido Ec				e.m.p. (±mg)
	Carga (g)	I (g)	ΔL (mg)	Eo (mg)	Carga (g)	I (g)	ΔL (mg)	Ec (mg)	
1	0,0010	0,0009	0,0	-0,1	70,0000	69,9998	0,0	-0,2	2,0
2		0,0009	0,0	-0,1		69,9998	0,0	-0,2	
3		0,0009	0,0	-0,1		69,9998	0,0	-0,2	
4		0,0010	0,0	0,0		69,9999	0,0	-0,1	
5		0,0010	0,0	0,0		69,9998	0,0	-0,2	

ENSAYO DE PESAJE

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
Temperatura	21,7 °C	21,7 °C
Humedad Relativa	51,2 %	51,2 %

Carga (g)	CRECIENTES				DECRECIENTES				e.m.p. (±mg)
	I (g)	ΔL (mg)	E (mg)	Ec (mg)	I (g)	ΔL (mg)	E (mg)	Ec (mg)	
0,0010	0,0010	0,0	0,0						
0,0100	0,0100	0,0	0,0	0,0	0,0100	0,0	0,0	0,0	1,0
0,0200	0,0200	0,0	0,0	0,0	0,0200	0,0	0,0	0,0	1,0
0,0500	0,0500	0,0	0,0	0,0	0,0500	0,0	0,0	0,0	1,0
0,1000	0,1000	0,0	0,0	0,0	0,1000	0,0	0,0	0,0	1,0
1,0000	1,0000	0,0	0,0	0,0	1,0000	0,0	0,0	0,0	1,0
20,0000	19,9999	0,0	-0,1	-0,1	19,9999	0,0	-0,1	-0,1	1,0
50,0000	49,9998	0,0	-0,2	-0,2	49,9998	0,0	-0,2	-0,2	1,0
70,0000	69,9998	0,0	-0,2	-0,2	69,9998	0,0	-0,2	-0,2	2,0
110,0000	110,0000	0,0	0,0	0,0	110,0000	0,0	0,0	0,0	2,0
220,0000	220,0003	0,0	0,3	0,3	220,0003	0,0	0,3	0,3	3,0

Donde: I;R : Indicación o lectura de la balanza en kilogramo (g) E : Error del instrumento
ΔL : Carga adicional Eo : Error en cero
e.m.p. : Error máximo permitido Ec : Error corregido

Lectura Corregida : $R_{\text{corregido}} = R - 1,47 \times 10^{-6} \times R$

Incertidumbre de Medición : $U_R = 2 \times \sqrt{4,33 \times 10^{-9} \text{ g}^2 + 1,20 \times 10^{-9} \times R^2}$

OBSERVACIONES

Con fines de identificación de la calibración se colocó una etiqueta autoadhesiva de color verde.

(*) Obtenida a partir de la División de Escala (d) y de la Clase de Exactitud

INCERTIDUMBRE

La incertidumbre de medición reportada se denomina Incertidumbre Expandida de medida (U) se ha obtenido multiplicación la incertidumbre Estándar Combinada (u) por el Factor de Cobertura (k = 2) que, para una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95%

FIN DEL DOCUMENTO


PGC-16-r11/Febrero 2015/rev.01

Revisado: CCEB

Aprobado: RPN

ANEXO 4

CERTIFICADO DE MANTENIMIENTO DE BALANZA



Test & Control

Aseguramiento Metrológico

INFORME TECNICO DE MANTENIMIENTO
ITM-0313-2017

O.T.M. : 0086-2423 Fecha de emisión : 2017 - 07 - 26 Página : 1 de 2

1. SOLICITANTE : INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
DIRECCIÓN : Av. José Saco Km. 13 – Carabaylo, Lima - Perú

2. INSTRUMENTO DE MEDICIÓN : BALANZA

Marca : AND	Capacidad Máxima : 220 g
Modelo : GH-200	División de Escala, d : 0,0001 g
Nº Serie : 15101451	División de Verificación, e : 0,001 g
Procedencia : Japon	Clase : 1
Código de Ident. : BA21AC	Tipo : Electrónica
Ubicación : LABORATORIO 6	Fecha de Mantenimiento : 2017 - 07 - 06


3.- LUGAR DE MANTENIMIENTO.
El mantenimiento se realizó en las instalaciones de INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR

4. INSPECCIÓN VISUAL DEL EQUIPO.


INSPECCIÓN VISUAL					
DISPLAY	BUEN ESTADO	PLATAFORMA	BUEN ESTADO	URNA	BUEN ESTADO
CUBIERTA	BUEN ESTADO	ESTRUCTURAS	BUEN ESTADO	NIVEL	BUEN ESTADO
CONECTORES	NO TIENE	LUZ DE DISPLAY	BUEN ESTADO	FUENTE	NO TIENE
CABLES	BUEN ESTADO	AISLADORES	NO TIENE	PATAS	BUEN ESTADO
ENCHUFES	BUEN ESTADO	TOPES/TRABAS	NO TIENE	TECLADO Y/O BOTONES	BUEN ESTADO

5. INTERVENCIÓN TÉCNICA.
Se realizó prueba de pesaje inicial del equipo.
Se realizó la limpieza interna y externa del equipo.
Se verificó las patas del equipo y se niveló.
Se ajustó el equipo con pesas patrones (Ver tabla Nº 1, gráfico Nº 1)
Se realizó pruebas de pesaje finales.

6. OBSERVACIONES.
El equipo se encuentra operativo y en óptimas condiciones para su calibración.



Lic. Nicolás Ramos Paucar
Gerente Técnico
CFP: 0316




Jr. Condesa de Lemos Nº 117 - San Miguel - Lima / Teléfono: 262-9536 / E-mail: informes@testcontrol.com.pe

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACIÓN ESCRITA DE TEST & CONTROL S.A.S.

ANEXO 5

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL BAÑO TERMOSTÁTICO



Test & Control
Aseguramiento Metrológico

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

LTH-1469-2017

O.T. : 1689-3162 Fecha de emisión : 2017-09-21 Página : 1 de 4

1. SOLICITANTE : INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
DIRECCIÓN : Calle Domingo Casanova N° 215 Lince, Lima, Lima

2. EQUIPO DE MEDICIÓN : BAÑO TERMOSTATICO
MARCA : MEMMERT
N° DE SERIE : 781041
MODELO : W270

PROCEDENCIA : ALEMANIA
COD. DE IDENT. : ES 42AC
UBICACIÓN : Lab 17

TEMP. DE TRABAJO : 37 °C ± 1 °C

DESCRIPCIÓN	CONTROLADOR DEL EQUIPO
ALCANCE DE INDICACIÓN	-100°C a 950°C
DIVISIÓN DE ESCALA	0,1 °C
TIPO	DIGITAL

3. FECHA Y LUGAR DE MEDICIÓN.
La calibración se realizó el 4 de Septiembre del 2017 en las instalaciones de INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR

4. MÉTODO.
La calibración se realizó por comparación directa con nuestro termómetro patrón según procedimiento PC- 019 "Procedimiento de calibración de baños termostáticos". Primera Edición - Abril 2009. SNM - INDECOPI


5. PATRÓN DE MEDICIÓN.

INSTRUMENTO	ALCANCE DE INDICACIÓN	DIV. DE ESCALA / RESOLUCIÓN	CLASE DE EXACTITUD	CERTIFICADO Y/O INFORME	ENTIDAD
Sensores de temperatura	-100 °C a 400°C	0,1 °C	clase 2	LT-772-2016	DM-INACAL


6. CONDICIONES AMBIENTALES.

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
TEMPERATURA	21,2 °C	21,1° C
HUMEDAD RELATIVA	66%	67%

7. OBSERVACIONES.
Los resultados de las mediciones efectuadas se muestran en las páginas siguientes del presente documento.
La incertidumbre de la medición se determinó con un factor de cobertura k=2, para un nivel de confianza de 95 %.
Para el punto de calibración se programó a la temperatura de 37 °C, obteniéndose así una temperatura promedio en el controlador del equipo de 37 °C y dentro de la estufa un promedio de 37,1 °C así como se muestra en la tabla.
El tiempo de estabilización para la temperatura trabajo fue de 2 horas desde las instalaciones de los sensores.
Con fines de identificación de la calibración se colocó una etiqueta autoadhesiva de color verde.
La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento de medición.



Lic. Nicolás Ramos Paredes
Gerente Técnico
CFP: 0316



RANGO DE TRABAJO: 37 °C ± 1 °C												
Tiempo (min)	Controlador del equipo (°C)	Indicación termómetros patrones										Temperatura Promedio (°C)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
00	37,0	36,8	37,0	36,3	37,7	37,5	37,5	37,2	37,2	37,7	36,4	37,1
02	37,0	36,9	37,0	36,9	36,4	36,6	37,1	36,6	37,0	37,2	36,5	36,8
04	37,0	37,2	36,7	37,3	37,8	37,2	37,0	37,0	37,2	37,0	37,3	37,2
06	37,0	37,2	37,3	37,2	36,1	37,3	36,7	38,0	37,1	36,4	36,6	37,0
08	37,0	37,2	37,9	37,1	36,1	37,9	37,5	37,4	36,6	37,5	37,2	37,2
10	37,0	36,7	36,5	36,7	37,8	36,7	37,3	37,2	36,3	36,4	37,0	36,9
12	37,0	37,7	36,2	37,0	37,1	36,5	37,4	37,0	37,3	36,3	37,2	37,0
14	37,0	36,1	36,6	37,4	36,7	36,8	37,6	37,0	36,9	37,0	36,4	36,9
16	37,0	36,3	37,1	37,3	36,9	37,0	36,2	37,5	37,8	37,6	37,9	37,2
18	37,0	37,3	37,4	36,7	36,9	36,5	37,6	36,4	37,5	37,6	36,9	37,1
20	37,0	37,0	37,0	36,5	36,4	36,8	37,6	36,6	37,2	37,1	37,0	36,9
22	37,0	37,1	36,9	37,0	37,9	37,9	37,7	37,4	36,9	37,8	36,8	37,3
24	37,0	37,1	37,7	37,6	36,4	36,9	36,7	37,4	37,9	37,3	37,3	37,2
26	37,0	36,7	37,5	37,7	37,0	37,9	37,1	37,7	37,4	37,6	37,2	37,4
28	37,0	36,5	36,3	37,8	36,7	37,3	37,3	37,7	37,6	37,4	36,9	37,2
30	37,0	36,7	36,5	37,2	36,8	36,8	37,5	37,2	37,1	37,1	37,6	37,1
32	37,0	36,7	37,6	37,4	37,1	36,4	37,5	37,8	37,2	37,7	37,6	37,3
34	37,0	37,0	37,6	37,6	36,7	36,5	37,0	37,5	37,0	36,7	37,9	37,2
36	37,0	37,6	37,3	37,0	36,2	36,8	37,3	37,1	37,4	37,7	36,8	37,1
38	37,0	37,2	38,1	36,7	37,8	37,2	37,9	37,1	37,3	37,1	36,8	37,3
40	37,0	36,6	37,8	36,3	38,0	37,0	37,0	36,6	36,7	36,9	37,7	37,1
42	37,0	36,1	37,8	37,0	37,9	37,2	37,4	37,2	37,8	36,9	37,2	37,3
44	37,0	37,0	38,0	37,2	37,8	36,9	37,4	37,7	37,9	37,6	36,3	37,4
46	37,0	37,2	37,9	36,4	36,9	37,0	36,7	36,4	36,7	36,4	37,3	36,9
48	37,0	37,8	36,1	37,8	37,2	36,6	37,4	36,8	37,5	37,0	37,1	37,1
50	37,0	36,5	37,1	37,5	37,0	37,2	36,7	37,1	36,7	36,8	37,8	37,0
52	37,0	37,9	37,2	36,7	36,5	37,3	36,7	37,1	36,3	37,4	37,5	37,1
54	37,0	37,8	37,3	37,0	36,7	37,0	36,8	37,1	37,8	37,7	38,0	37,3
56	37,0	37,1	37,1	37,2	37,4	36,8	36,9	37,3	37,5	37,9	37,4	37,3
58	37,0	36,6	37,9	36,8	37,6	36,1	37,2	36,6	37,2	36,6	36,8	36,9
60	37,0	37,4	36,4	37,0	37,6	37,2	37,4	36,4	37,4	37,3	36,8	37,1
T PROM	37,0	37,0	37,2	37,1	37,1	37,0	37,2	37,1	37,2	37,2	37,1	37,1
T MAX	37,0	37,9	38,1	37,8	38,0	37,9	37,9	38,0	37,9	37,9	38,0	38,0
T MIN	37,0	36,1	36,1	36,3	36,1	36,1	36,2	36,4	36,3	36,3	36,3	36,3
DTT	0,0	1,8	2,0	1,5	1,9	1,8	1,7	1,8	1,6	1,6	1,7	1,7



DTT : DIFERENCIA DE TEMPERATURA EN EL TIEMPO (T MAX-T MIN)



DESVIACIÓN MÁXIMA DE TEMPERATURA EN EL EQUIPO		INCERTIDUMBRE (°C)
EN EL TIEMPO (°C)	EN EL ESPACIO (°C)	
1,9	0,2	0,36



ANEXO 6


CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL POTENCIÓMETRO

 <p>Test & Control Aseguramiento Metrológico</p>											
CERTIFICADO DE CALIBRACION LMQ - 0144 - 2017											
Q.T. : 1482-2789	Fecha de emisión : 2017 - 08 - 12	Página : 1 de 2									
SOLICITANTE : INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR Dirección : Av. José Saco Km. 13.5 Carabayllo											
INSTRUMENTO DE MEDICIÓN : MEDIDOR DE pH Marca : FISHER SCIENTIFIC Modelo : AR20 N° de Serie : AR61205060 Intervalo de Indicación : -2 pH a 20 pH Resolución : 0,01 pH Procedencia : U.S.A. Identificación : PH02AC Ubicación : LAB 7 Fecha de Calibración : 2017 - 08 - 04		TEST & CONTROL S.A.C. es un Laboratorio de Calibración y Certificación de equipos de medición basado a la Norma Técnica Peruana ISO/IEC 17025. TEST & CONTROL S.A.C. brinda los servicios de calibración de instrumentos de medición con los más altos estándares de calidad, garantizando la satisfacción de nuestros clientes. Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los patrones nacionales o internacionales, de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones se le recomienda al usuario recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados de acuerdo al uso. Los resultados en el presente documento no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.									
LUGAR DE CALIBRACIÓN Instalaciones del LAB 7 del INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR											
MÉTODO DE CALIBRACIÓN La calibración se realizó por comparación directa con nuestro calibrador patrón según procedimiento PC - 020 "Procedimiento de calibración de medidores de pH". Primera Edición - Junio 2010. SNM - INDECOPI											
CONDICIONES AMBIENTALES <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th>Magnitud</th> <th>Inicial</th> <th>Final</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Temperatura</td> <td>19,7 °C</td> <td>19,7 °C</td> </tr> <tr> <td>Humedad Relativa</td> <td>56,8 %</td> <td>56,8 %</td> </tr> </tbody> </table>			Magnitud	Inicial	Final	Temperatura	19,7 °C	19,7 °C	Humedad Relativa	56,8 %	56,8 %
Magnitud	Inicial	Final									
Temperatura	19,7 °C	19,7 °C									
Humedad Relativa	56,8 %	56,8 %									
TEST & CONTROL S.A.C. no se responsabiliza de los perjuicios que puedan ocurrir después de su calibración debido a la mala manipulación de este instrumento, ni de una incorrecta interpretación de los resultados de la calibración declarados en el presente documento. El presente documento carece de valor sin firma y sello.											
Lic. Nicolás Rojas Gerente General CPE: 6310											

 <p>Test & Control</p> <p>Aseguramiento Metrológico</p>	<p>Certificado : LMQ - 0144 - 2017</p> <p>Página : 2 de 2</p>																
<p>TRAZABILIDAD</p>																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Trazabilidad</th> <th style="width: 30%;">Material de Referencia</th> <th style="width: 40%;">Certificado</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CONTROL COMPANY</td> <td>4,005 pH</td> <td>4280-7963695</td> </tr> <tr> <td>CONTROL COMPANY</td> <td>7,000 pH</td> <td>4281-7980429</td> </tr> <tr> <td>CONTROL COMPANY</td> <td>10,016 pH</td> <td>4882-7888667</td> </tr> </tbody> </table>		Trazabilidad	Material de Referencia	Certificado	CONTROL COMPANY	4,005 pH	4280-7963695	CONTROL COMPANY	7,000 pH	4281-7980429	CONTROL COMPANY	10,016 pH	4882-7888667				
Trazabilidad	Material de Referencia	Certificado															
CONTROL COMPANY	4,005 pH	4280-7963695															
CONTROL COMPANY	7,000 pH	4281-7980429															
CONTROL COMPANY	10,016 pH	4882-7888667															
<p>RESULTADOS DE MEDICIÓN</p>																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Valor Certificado (pH)</th> <th style="width: 20%;">Lectura de pHmetro (pH)</th> <th style="width: 20%;">Error (pH)</th> <th style="width: 40%;">Incertidumbre (pH)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4,001</td> <td>3,99</td> <td>-0,011</td> <td>0,014</td> </tr> <tr> <td>7,017</td> <td>7,00</td> <td>-0,017</td> <td>0,013</td> </tr> <tr> <td>10,067</td> <td>10,03</td> <td>-0,037</td> <td>0,013</td> </tr> </tbody> </table>		Valor Certificado (pH)	Lectura de pHmetro (pH)	Error (pH)	Incertidumbre (pH)	4,001	3,99	-0,011	0,014	7,017	7,00	-0,017	0,013	10,067	10,03	-0,037	0,013
Valor Certificado (pH)	Lectura de pHmetro (pH)	Error (pH)	Incertidumbre (pH)														
4,001	3,99	-0,011	0,014														
7,017	7,00	-0,017	0,013														
10,067	10,03	-0,037	0,013														
<p>OBSERVACIONES</p> <p>Con fines de identificación de la calibración se colocó una etiqueta autocadhesiva de color verde.</p> <p>(*) Dato proporcionado por el cliente</p>																	
<p>DECLARACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA U</p> <p>La incertidumbre expandida de medida se ha obtenido multiplicando la incertidumbre típica de medición por el factor de cobertura $k=2$ que, para una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95%.</p>																	
<p>FIN DEL DOCUMENTO</p>																	
																	

ANEXO 7

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA INCUBADORA



Test & Control

Aseguramiento Metrológico

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

LTH-1051-2017

O.T. : 1273-2423 Fecha de emisión : 2017-07-25 Página : 1 de 3

- SOLICITANTE** : INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
DIRECCIÓN : Av. José Saco Km. 13 - Carabaylla, Lima - Perú
- EQUIPO DE MEDICIÓN** : INCUBADORA
MARCA : MWM
N° DE SERIE : B052298
MODELO : INCUCCELL 111
PROCEDENCIA : ALEMANIA
COD. DE IDENT. : E538AC
UBICACIÓN : Laboratorio 17


TEMP. DE TRABAJO : 32,5 °C ± 2,5 °C

DESCRIPCIÓN	CONTROLADOR DEL EQUIPO
ALCANCE DE INDICACIÓN	0°C a 99,9°C
DIVISIÓN DE ESCALA	0,1 °C
TIPO	DIGITAL


- FECHA Y LUGAR DE MEDICIÓN.**
 La calibración se realizó el 6 de Julio del 2017 en las instalaciones de INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
- MÉTODO.**
 La calibración se efectuó por comparación directa con termómetros patrones calibrados que tienen trazabilidad a la Escala Internacional de Temperatura de 1990, se usó el *Procedimiento para la Calibración o caracterización de medios isotermos con aire como medio termostático PC-018 2da edición del SNM-INDECOP*.
- PATRÓN DE MEDICIÓN.**

INSTRUMENTO	ALCANCE DE INDICACIÓN	DIV. DE ESCALA / RESOLUCIÓN	CLASE DE EXACTITUD	CERTIFICADO Y/O INFORME	ENTIDAD
Sensores de temperatura	-100 °C a 400°C	0,1 °C	clase 2	LT-772-2016	DM-INACAL
- CONDICIONES AMBIENTALES.**

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
TEMPERATURA	20,1 °C	20,2° C
HUMEDAD RELATIVA	61%	61%
- OBSERVACIONES.**
 Los resultados de las mediciones efectuadas se muestran en las páginas siguientes del presente documento.
 La incertidumbre de la medición se determinó con un factor de cobertura k=2, para un nivel de confianza de 95 %.
 Para el punto de calibración se programó a la temperatura de 32,5 °C, obteniéndose así una temperatura promedio en el termómetro del equipo de 32,5 °C y dentro de la estufa un promedio de 31,8 °C así como se muestra en la tabla.
 El tiempo de estabilización para la temperatura trabajo fue de 2 horas desde las instalaciones de los sensores.
 Con fines de identificación de la calibración se colocó una etiqueta autoadhesiva de color verde.
 La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento de medición.



Lic. Nicolás Ramos Páucar
Gerente Técnico.
CFP: 0316



RANGO DE TRABAJO: 32.5 °C ± 2.5 °C													
Tiempo (min)	CONTROLADOR DEL EQUIPO (°C)	Indicación termómetros patrones										Temperatura Promedio (°C)	Tmax-Tmín (°C)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
00	32,5	31,8	31,8	31,9	31,7	31,8	31,9	31,7	31,8	31,7	31,8	31,8	0,2
02	32,5	31,9	31,9	31,9	32,0	32,0	32,0	31,9	31,9	31,9	31,8	31,9	0,2
04	32,5	32,1	32,1	31,9	32,1	31,9	32,0	32,0	32,0	31,9	31,9	32,0	0,2
06	32,5	32,1	32,1	31,9	32,0	32,0	32,0	32,0	32,1	31,9	32,0	32,0	0,2
08	32,5	31,9	31,8	31,9	32,0	32,0	31,8	31,8	31,9	31,8	32,0	31,9	0,2
10	32,5	31,7	31,7	31,7	31,9	31,8	31,7	31,7	31,8	31,8	31,8	31,8	0,2
12	32,5	31,6	31,8	31,7	31,6	31,7	31,6	31,6	31,7	31,7	31,7	31,7	0,2
14	32,5	31,5	31,7	31,6	31,6	31,5	31,6	31,6	31,7	31,7	31,7	31,6	0,2
16	32,5	31,5	31,6	31,7	31,6	31,5	31,5	31,7	31,7	31,7	31,6	31,7	0,2
18	32,5	31,7	31,7	31,7	31,8	31,8	31,7	31,6	31,7	31,6	31,7	31,7	0,2
20	32,5	31,8	31,8	31,9	31,8	31,8	31,7	31,8	31,8	31,9	31,8	31,8	0,2
22	32,5	31,9	32,0	31,9	31,9	31,8	31,9	32,0	32,0	31,9	31,8	31,9	0,2
24	32,5	31,9	31,9	31,9	32,0	32,0	31,9	32,0	31,9	32,1	32,0	32,0	0,2
26	32,5	31,9	31,9	32,0	32,1	32,0	32,0	32,0	31,9	32,0	32,0	32,0	0,2
28	32,5	31,9	32,0	32,0	32,0	32,0	32,0	32,0	31,8	31,9	31,9	32,0	0,2
30	32,5	31,8	31,8	31,8	31,8	31,9	31,8	31,8	31,9	31,8	31,8	31,8	0,1
32	32,5	31,8	31,8	31,7	31,7	31,8	31,7	31,8	31,7	31,6	31,7	31,7	0,2
34	32,5	31,6	31,6	31,7	31,6	31,6	31,5	31,5	31,6	31,7	31,7	31,6	0,2
36	32,5	31,7	31,7	31,7	31,6	31,7	31,5	31,6	31,7	31,7	31,5	31,6	0,2
38	32,5	31,6	31,6	31,6	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	0,1
40	32,5	31,8	31,7	31,8	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	31,7	0,2
42	32,5	31,9	31,9	32,0	31,8	31,8	32,0	31,9	32,0	32,0	32,0	31,9	0,2
44	32,5	31,9	32,0	32,0	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9	32,0	31,9	0,2
46	32,5	32,0	31,9	31,9	32,0	32,0	32,0	32,0	31,9	32,0	32,0	32,0	0,1
48	32,5	32,0	32,0	31,9	31,8	32,0	31,9	31,9	32,0	31,8	32,0	32,0	0,2
50	32,5	31,8	31,9	31,7	31,9	31,8	31,9	31,7	31,9	31,9	31,8	31,8	0,2
52	32,5	31,7	31,7	31,6	31,6	31,6	31,8	31,7	31,6	31,8	31,7	31,7	0,2
54	32,5	31,7	31,7	31,6	31,5	31,7	31,6	31,7	31,6	31,5	31,7	31,6	0,2
56	32,5	31,6	31,6	31,6	31,6	31,6	31,6	31,6	31,5	31,6	31,6	31,6	0,2
58	32,5	31,7	31,7	31,7	31,7	31,6	31,7	31,6	31,6	31,6	31,6	31,7	0,1
60	32,5	31,6	31,7	31,9	31,6	31,8	31,7	31,7	31,8	31,9	31,7	31,8	0,2
T PROM	32,5	31,8	31,8	31,8	31,8	31,8	31,8	31,8	31,6	31,8	31,8	31,8	
T MAX	32,5	32,1	32,1	32,0	32,1	32,0	32,0	32,0	32,1	32,1	32,0		
T MIN	32,5	31,5	31,6	31,6	31,5	31,5	31,5	31,5	31,5	31,5	31,5		
DTT		0,0	0,6	0,5	0,4	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	
DTT : DIFERENCIA DE TEMPERATURA EN EL TIEMPO (T MAX-T MIN)													


DTT : DIFERENCIA DE TEMPERATURA EN EL TIEMPO (T MAX-T MIN)

DESVIACIÓN MÁXIMA DE TEMPERATURA EN EL EQUIPO		INCERTIDUMBRE (°C)
EN EL TIEMPO (°C)	EN EL ESPACIO (°C)	
0,6	0,0	0,11



ANEXO 8

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA INCUBADORA



Test & Control

Aseguramiento Metrológico

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

LTH-1050-2017

O.T. : 1273-2423 Fecha de emisión : 2017-07-25 Página : 1 de 3

1. SOLICITANTE : INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR
DIRECCIÓN : Av. José Saco Km. 13 – Carabayillo, Lima – Perú

2. EQUIPO DE MEDICIÓN : INCUBADORA
MARCA : PRECISION SCIENTIFIC (THELCO) PROCEDENCIA : No indica
N° DE SERIE : 9804-0-10 COD. DE IDENT. : ES35AC
MODELO : 5DG UBICACIÓN : Laboratorio 17

TEMP. DE TRABAJO : 22,5 °C ± 2,5 °C

DESCRIPCIÓN	CONTROLADOR DEL EQUIPO
ALCANCE DE INDICACIÓN	5°C a 70°C
DIVISIÓN DE ESCALA	0,1 °C
TIPO	DIGITAL

3. FECHA Y LUGAR DE MEDICIÓN.
La calibración se realizó el 6 de Julio del 2017 en las instalaciones de INSTITUTO PERUANO DE ENERGIA NUCLEAR

4. MÉTODO.
La calibración se efectuó por comparación directa con termómetros patrones calibrados que tienen trazabilidad a la Escala Internacional de Temperatura de 1990, se usó el *Procedimiento para la Calibración o caracterización de medios isoterms con aire como medio termostático PC-018 2da edición del SNM-INDECOPI*.


5. PATRÓN DE MEDICIÓN.

INSTRUMENTO	ALCANCE DE INDICACIÓN	DIV. DE ESCALA / RESOLUCIÓN	CLASE DE EXACTITUD	CERTIFICADO Y/O INFORME	ENTIDAD
Sensores de temperatura	-100 °C a 400°C	0,1 °C	clase 2	LT-772-2016	DM-INACAL


6. CONDICIONES AMBIENTALES.

MAGNITUD	INICIAL	FINAL
TEMPERATURA	20,5 °C	20,6° C
HUMEDAD RELATIVA	63%	62%

7. OBSERVACIONES.
Los resultados de las mediciones efectuadas se muestran en las páginas siguientes del presente documento.
La incertidumbre de la medición se determinó con un factor de cobertura $k=2$, para un nivel de confianza de 95 %.
Para el punto de calibración se programó a la temperatura de 22,5 °C, obteniéndose así una temperatura promedio en el termómetro del equipo de 22,5 °C y dentro de la estufa un promedio de 23,1 °C así como se muestra en la tabla.
El tiempo de estabilización para la temperatura trabajo fue de 2 horas desde las instalaciones de los sensores.
Con fines de identificación de la calibración se colocó una etiqueta autoadhesiva de color verde.
La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento de medición.



Lic. Nicolás Ramos Paucar
Gerente Técnico.
CFP: 0316





Aseguramiento Metrológico

Certificado N° : LTH-1050-2017
 Página : 2 de 3

RANGO DE TRABAJO: 22,5 °C ± 2,5 °C													
Tiempo (min)	CONTROLADOR DEL EQUIPO (°C)	Indicación termómetros patrones										Temperatura Promedio (°C)	Tmax-Tmin (°C)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
00	22,5	22,2	23,9	22,2	23,0	23,3	23,1	22,5	23,7	22,1	22,2	22,8	1,8
02	22,5	24,3	22,6	22,9	22,6	24,0	24,3	23,7	23,1	24,1	23,0	23,5	1,7
04	22,5	23,3	23,6	24,7	23,4	23,9	23,3	23,2	23,3	23,5	23,1	23,5	1,8
06	22,5	24,3	23,9	24,3	24,6	24,0	23,6	24,7	24,9	23,4	25,0	24,3	1,8
08	22,5	23,5	24,6	24,3	24,6	25,0	23,9	24,7	23,8	23,4	24,9	24,3	1,8
10	22,5	23,4	23,3	24,0	24,3	24,6	24,3	24,0	23,8	24,4	23,3	23,9	1,3
12	22,5	23,2	23,3	23,6	22,9	22,6	22,8	23,1	24,1	23,5	23,3	23,3	1,5
14	22,5	22,2	22,6	22,7	22,3	22,9	23,4	22,2	23,4	22,0	22,8	22,8	1,4
16	22,5	22,9	22,6	23,3	23,1	22,0	23,3	22,1	22,4	22,8	22,3	22,7	1,3
18	22,5	21,9	21,7	21,6	21,4	23,0	23,1	21,7	21,4	21,8	22,9	22,1	1,7
20	22,5	22,8	22,5	22,3	22,7	21,8	22,5	22,2	21,7	21,1	22,4	22,2	1,7
22	22,5	22,7	21,2	21,6	22,5	21,9	22,8	23,1	21,2	22,5	22,6	22,2	1,9
24	22,5	22,6	22,8	21,9	22,4	22,6	22,2	23,1	21,9	21,8	23,0	22,4	1,3
26	22,5	22,7	23,7	23,0	22,0	23,3	23,3	23,8	23,5	23,7	23,8	23,3	1,8
28	22,5	22,6	22,6	23,5	23,8	24,1	23,2	23,5	22,4	22,8	23,8	23,3	1,7
30	22,5	23,9	23,1	24,2	23,3	23,9	24,2	23,1	23,0	22,8	23,4	23,5	1,4
32	22,5	25,1	24,1	23,6	24,0	24,6	24,6	23,3	24,7	23,1	24,0	24,1	2,0
34	22,5	24,5	23,8	23,8	24,8	23,4	24,7	24,4	23,9	23,4	23,9	24,1	1,9
36	22,5	24,8	23,5	24,9	23,0	24,8	24,1	23,9	24,7	24,4	23,1	24,1	1,9
38	22,5	23,1	24,1	23,1	23,0	24,0	23,0	22,8	23,4	23,3	22,7	23,3	1,4
40	22,5	23,1	22,2	23,3	22,5	24,0	23,1	23,3	22,2	22,2	23,4	22,9	1,8
42	22,5	22,4	21,6	21,7	22,3	23,1	23,0	21,6	22,9	22,1	23,3	22,4	1,7
44	22,5	23,1	22,0	22,8	22,9	23,1	22,5	22,2	22,2	21,7	21,9	22,4	1,4
46	22,5	21,3	22,2	21,2	22,7	21,7	22,7	21,5	22,4	22,2	21,3	21,9	1,5
48	22,5	21,7	21,7	21,6	21,7	21,5	21,7	21,5	21,7	21,6	21,7	21,6	0,2
50	22,5	22,6	22,6	21,4	21,5	22,0	23,3	21,4	21,3	22,1	22,2	22,0	2,0
52	22,5	23,3	23,2	22,7	23,2	23,7	23,7	23,0	23,1	22,9	22,8	23,2	1,0
54	22,5	23,0	23,2	23,1	23,1	23,0	23,0	23,9	23,9	23,1	23,7	23,3	0,9
56	22,5	24,0	24,0	24,1	23,6	23,8	23,9	23,7	23,8	23,8	23,8	23,9	0,4
58	22,5	23,2	24,6	23,4	24,3	24,3	24,7	24,3	23,2	23,1	24,1	23,9	1,6
60	22,5	23,1	23,0	23,0	23,1	23,0	23,1	23,0	23,0	23,1	23,0	23,0	0,1
T PROM	22,5	23,2	23,0	23,0	23,1	23,3	23,4	23,0	23,0	22,8	23,1	23,1	
T. MAX	22,5	25,1	24,6	24,9	24,8	25,0	24,7	24,7	24,9	24,4	25,0		
T. MIN	22,5	21,3	21,2	21,2	21,4	21,5	21,7	21,4	21,2	21,1	21,3		
DTT	0,0	3,8	3,4	3,7	3,4	3,5	3,0	3,3	3,7	3,3	3,7		

DTT : DIFERENCIA DE TEMPERATURA EN EL TIEMPO (T. MAX-T. MIN)

DESVIACIÓN MÁXIMA DE TEMPERATURA EN EL EQUIPO		INCERTIDUMBRE (°C)
EN EL TIEMPO (°C)	EN EL ESPACIO (°C)	
3,7	0,5	0,67

